ISSN 0370-369x

RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas

SUMÁRIO

Hemoglobinopatia SC: diagnóstico laboratorial e aconselhamento genético – A propósito de um caso 46
Paulo H. da Silva; Ivana Pivatto & Ivo Ronchi Junior
SC Hemoglobinopathy: laboratory diagnostic and genetic counseling– Case report

Metáfases obtidas de *pool* de colônias de progenitores hemopoiéticos geradas em ensaios clonogênicos 49
A.M. Weffort-Santos; V.M.M.S. Roxo & S.M. Fadel
Metaphases from pooled colonies of haemopoietic progenitors grown in clonogenic assays

Avaliação *"in vitro"* da ação de EMLA (creme de prilocaína + lidocaína) em relação aos níveis sangüíneos de metahemoglobina 55
Mônica Bortolini; Marcelo Porto; Renato Procianoy & Jarbas R. de Oliveira
"In vitro" evaluation of the EMLA (cream of prilocain + lidocain) action and its relation to the blood levels of methaemoglobin

Diagnóstico de infecção por *Helicobacter pylori* 57
Vincent K. S. Leung & Joseph J. Y. Sung
Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection

Artigo de revisão
***Diabetes mellitus* – uma revisão Parte II: Características clínicas, gerenciamento das dislipidemias em pacientes com IDDM, diagnóstico e achados laboratoriais** 62
Ernesto P. de Oliveira; Luiz Gustavo P. Martins; Sérgio Akira Uyemura & Antenor Henrique P. Pedrazzi
Diabetes mellitus – a review Part II: Clinical characteristics, management of dyslipidemia in IDDM patients, diagnostic and findings of laboratory

Comportamento do leucograma em crianças com pneumonia 69
Geraldo Barroso Cavalcanti Júnior; Maria Cristina Pignataro Emerenciano de Araújo & Teresa Neuma de Souza Brito
The leukocytes count conduct in children with pneumonia

Ocorrência de *Listeria spp* em crianças da cidade de Goiânia-Goiás 73
Idalina Thiomi I. Nojimoto; Sandra Regina de Souza & Leda Maria Valadão
Occurrency of *Listeria spp* in childrens from Goiânia city, Goiás state

O papel do exame do sêmen na infertilidade masculina II - Avaliação da atividade secretora das glândulas acessórias genitais .. 75
Fernando Tadeu Andrade-Rocha & Pedro Paulo Noel Gomes de Carvalho
The role of semen analysis in the male infertility II - Evaluation of the secretory activity of the accessory genital glands

***Mycobacterium tuberculosis* resistentes à isoniazida e a rifampicina** .. 81
Pedro Eduardo Almeida da Silva
Mycobacterium tuberculosis resistant to isoniazid and rifampicina

Estudo comparativo entre os métodos de cultura, bacterioscopia pelo gram, contra-imunoeletroforese e teste de aglutinação em látex para o diagnóstico precoce das meningites bacterianas em amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) 85
Isabel Cristina Rossiter Araújo Cardoso; Maria das Graças Alves Benfica; Marluce A. Assunção Oliveira, Chequer Buffe Chamone; Geraldo Leocádio Filho; Maria Aparecida Ribeiro & Maria Aparecida Pimenta Rocha
Comparative study between methods of culture, gram stain, counterimmunoelectrophoresis, latex agglutination to diagnose bacterial meningitis cerebrospinal fluid (CSF)

Determinação de células CD34 positivas no sangue periférico: otimização de método utilizando-se associadamente anticorpo monoclonal anti-CD14 89
Celso Mitsushi Massumoto; Sally Mizukami; Maria Fernanda Campos; Luciana Azevedo Gomes da Silva; Izabel Tutiya; Beatriz Beitler; Neusa Melo; Dalton Fischer Chamone & Frederico Dulley
Enumeration of CD34 positive cells in the peripheral blood: enhancement of the method through CD14 monoclonal antibody

XXIV Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
- **Temas Livres** 93
- **Programa** 133

2

VOLUME 29 1997

RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas

Publicação Trimestral

Diretor Responsável
Prof. João Ciribelli Guimarães

Vice-Diretor
Prof. Mateus Mandú de Souza

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 do Amparo Bacelar Palhano (MA), Profª. Juçara Maria de Castro Sobrinho (MG), Prof. Sebastião Ferreira Marinho (AM) e 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), Centro de Estudos do Centro de Hematologia Santa Catarina (RJ), Dr. Willy Carlos Jung (SC)

Microbiologia
Dr. Antônio Márcio Lopes (MG), Prof. Mateus Mandú de Souza (RJ), Prof. Maulori Curié Cabral (RJ), Prof. Raimundo Diogo Machado (RJ), Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho (RJ), Prof. Sérgio Fracalanza (RJ)

Imunologia
Prof. Moisés Abraham Fuks (RJ), Prof. Paulo Jaconi Saraiva (RS), Prof. Antônio Walter Ferreira (SP), Drª. Sumie Shimizu (SP), Dr. Carlos Henrique Ubatuba Lienert (RS)

Parasitologia
Dr. Antônio Pedro Soares (MG), Prof. Ediláudio Luna de Carvalho (PB), Profª. Myriam Cesarie Jourdan (RJ), Prof. Paulo S. Minami (SP), Profª. Natália de Almeida Vilella (GO), Profª. Marisa Porta (SP)

Imunoensaio
Dr. Eunco Camargo Neto (RS), Prof. Renato Di Dio (SP), Prof. José Carlos Barbério (SP)

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.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS
Rua Vicente Licínio, 95 - Tel.: (021) 264-4449
Fax.: (021) 204-0245 - Rio de Janeiro - RJ - 20270-340
http://www.mls.com.br/med/sbac
E-mail:sbac@mls.com.br

Diretoria

Presidente	Dr. Humberto Marques Tibúrcio
Vice-Presidente	Dr. Willy Carlos Jung
Secretário Geral	Drª. Virgínia Frota de Matos
Secretário	Drª. Elvira Maria Loureiro Colnago
Tesoureiro	Dr. Estevão José Colnago
Tesoureiro Adjunto	Dr. Nadilson da Silva Cunha

Membros do Conselho Fiscal
Titulares: Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Prof. Antônio José Marques D'Almeida (RS), Prof. José Ronaldo Cardoso (MG) - *Suplentes:* Dr. Darci Araújo Correia (CE), Prof. Carlos Adalberto Camargo Sannazzaro (SP) e Prof. Carlos Henrique Ubatuba Lienert (RS)

Comissão de Normas e Habilitação
Coordenação: Prof. Mateus Mandú de Souza (RJ)
Membros: Dr. Luiz Fernando Barcelos (RJ), 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), Prof. Paulo Fausto Cavduro (PB), Prof. Ediláudio Luna de Carvalho (PB), Prof. Carlos Henrique Ubatuba Lienert (RS), Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG), Dr. Durval Mazzei Nogueira (SP), Prof. Henrique Lerner (PR), Prof. Darci Araujo Correia (CE), Dr. Estevão José Colnago (RJ).

Diretor de Cursos
Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ)

Comissão Social
Drª. Virgínia Frota de Matos (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 Correa (RJ);
MERCOSUL: Dr. Alvaro Largura (PR)
Governamental: Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG), Dr. José Abol Corrêa (RJ), Prof. Carlos Adalberto de Camargo Sannazzaro (SP), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ)

Comissão de Avaliação do Programa Nacional de Controle de Qualidade
Coordenação: Dr. José Abol Corrêa (RJ)
Membros: Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Prof. Raimundo Diogo Machado (RJ), Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ), Dr. Estevão José Colnago (RJ), Drª. Heloisa Helena Ribas Vieira (RJ), Dr. Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG)

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

Informativo da SBAC
Coordenação: Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG)
Membros: Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ), Dr. Antônio 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 - 1997
Membros Natos - Dr. Ney Haushahn (RJ), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Dr. José Abol Corrêa (RJ), Prof. Mateus Mandú 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).

Regionais da Sociedade
Bahia - *Presidente:* Dr. Grimaldo dos Santos, Ceará - *Presidente:* Dr. José Antônio Perez Silveira, Distrito Federal - *Presidente:* Dr. Manoel Aureliano Junior, Goiás - *Presidente:* Dr. Ulisses Tuma, Minas Gerais - *Presidente:* Dr. Vanderley Eustáquio Machado, Paraná - *Presidente:* Prof. Yoshio Hashimoto, Pernambuco - *Presidente:* Dr. Tarcísio de Oliveira Moura, Rio Grande do Norte - *Presidente:* Profª. Gerusa Maria Caldas Maia, Rio Grande do Sul - *Presidente:* Drª Carmen Pilla

Delegados da Sociedade
Alagoas: Dr. Jurandir David da Silva, Amazonas: Prof. Sebastião Ferreira Marinho, Espírito Santo: Dr. Henrique Tommasi Neto, Maranhão: Profª. Rita Maria do Amparo Bacelar Palhano, Mato Grosso: Dr. Jerolino Lopes de Aquino, Mato Grosso do Sul: Dr. Heldir Ferrari Paniago, Santa Catarina: Dr. Willy Carlos Jung, São Paulo: Prof. Carlos Adalberto de Camargo Sannazzaro, Sergipe: Drª. Maria da Conceição de Lucena Oliveira

Assinatura anual: Exterior U$ 60

A SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS é filiada à International Federation of Clinical Chemistry - IFCC, à National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS e à Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica - COLABIOCLI

Produção Gráfica - MAGNUM EDITORA S/C LTDA - Tel.: (021) 233-0902

EDITORIAL

Este número da Revista Brasileira de Análises Clínicas é dedicado especialmente aos trabalhos apresentados no XXIV Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, Fortaleza, 25 a 29 de Maio de 1997.

Deixa-nos contente saber que a cada novo Congresso, o conteúdo dos trabalhos apresentados, quer como temas-livre quer para concorrer aos diferentes prêmios, apresentam sensíveis e crescentes avanços científicos.

É importante também mencionar o crescente número de trabalhos que são apresentados nas diferentes especialidades, traduzindo deste modo a relevante posição do Congresso como um foro adequado para que a comunidade científica demonstre a sua produção.

Estamos certos de que os beneficiários não são somente os Colegas que apresentam os seus trabalhos. Certamente, também, os Congressistas que comparecem aos temas-livres ou às conferências de apresentação dos trabalhos premiados, são beneficiados.

Julgamos que sua presença nas conferências de apresentação dos trabalhos premiados e nos painéis dos temas-livres irá lhe trazer novos conhecimentos, e ao mesmo tempo, dará incentivo aos colegas relatores destes trabalhos.

A Sociedade Brasileira de Análises Clínicas deseja deixar aqui registrado o seu apoio aos Colegas que apresentam seus trabalhos e a certeza de que tudo fará para lhes oferecer as melhores condições para as suas apresentações.

Hemoglobinopatia SC: diagnóstico laboratorial e aconselhamento genético – A propósito de um caso

SC Hemoglobinopathy: laboratory diagnostic and genetic counseling – Case report

Paulo H. da Silva[1], Ivana Pivatto[2] & Ivo Ronchi Junior[3]

RESUMO – O presente trabalho mostra um caso típico de diagnóstico de hemoglobinopatia a partir da observação da extensão sangüínea .Um homem, 59 anos , assintomático sob o ponto de vista hematológico, realiza exames pré-operatórios, dentre os quais foi solicitado o hemograma. A observação da extensão sangüínea revela a presença significativa de codócitos, exames complementares foram realizados e chegou-se ao diagnóstico de hemoglobinopatia SC. Posteriormente foram realizados, em seus familiares, exames para determinar o tipo de hemoglobina que foi herdada e foi realizado o aconselhamento genético.
PALAVRAS-CHAVE – Hemoglobinopatia SC, codócitos.

SUMMARY – This work shows a tipical case of a diagnostic of hemoglobinopathy from the observation of a blood smear. A man, 59 years old, with no symptoms by a hematologic point of view, was submited to do some pre surgical exams, including a hemogram. The analysis of the blood smear showed a great number of codocytes. Supplementary exames were realized and the final diagnostic was SC hemoglobinopathy. Later on his relatives were submited to do exames to stipulate the hemoglobin type that was been inherited, and so the genetic counseling was accomplished.
KEY WORDS – SC hemoglobinopathy, codocytes.

1. INTRODUÇÃO

A molécula da hemoglobina, cuja função primordial é a de transportar oxigênio é constituída por uma estrutura central, o heme, e por quatro cadeias de aminoácidos denominadas globinas, as quais se apresentam aos pares. Um adulto normal apresenta em seu sangue três tipos de hemoglobina. A principal é a hemoglobina A1 (Hb A1), cuja estrutura molecular é alfa2 beta2, e representa mais de 95% da hemoglobina total, a hemoglobina fetal (Hb F), cuja estrutura molecular é alfa2 gama2, e representa menos de 1% da hemoglobina total e a hemoglobina A2 (Hb A2), cuja estrutura molecular é alfa2 delta2. Os genes responsáveis pela codificação das globinas localizam-se nos braços curtos dos cromossomos 11 e 16.

As hemoglobinopatias hereditárias são defeitos genéticos que se manifestam através de uma mutação de ponto ou através de uma deleção ou duplicação de genes em nível de DNA. Na primeira situação a molécula pode se desestabilizar ou ocorrer uma alteração na afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, estas são as hemoglobinas variantes. Na segunda situação a produção de cadeias fica comprometida, estas são as talassemias.

A hemoglobinopatia S é uma mutação de ponto que ocasiona a troca do aminoácido glutâmico pela valina na cadeia beta da hemoglobina A1. É a alteração hematológica mais conhecida no homem e afeta cerca de 15 mil brasileiros, na forma homozigota da doença (SS), e cerca de 4 milhões de pessoas são heterozigotas (AS). O homozigoto irá exteriorizar um quadro clínico conhecido como anemia falciforme que é o resultado da polimerização da hemoglobina mutante no interior do eritrócito, polimerização esta desencadeada pela hipóxia e que deforma a hemácia, que passa a apresentar a forma de uma foice. Os eritrócitos falciformes ocasionam diferentes graus de bloqueios na microcirculação, causando isquemia e infartos em vários órgãos, sendo mais comum em ossos e baço. Estes pacientes cursam com um grau de anemia de moderada a grave, sem esplenomegalia. Os heterozigotos não apresentam anemia, nem a presença de células falciformes no sangue periférico. Porém, crises de falcização (crises vaso oclusivas) poderão ser desencadeadas por situações de extremo estresse, como anoxia e infecção grave. Nestes indivíduos a porcentagem de hemoglobina S não ultrapassa a 45% e merecem especial atenção por ocasião de anestesia e gestação.

A hemoglobinopatia C também é uma mutação de ponto que faz a troca do ácido glutâmico pela lisina na cadeia beta da hemoglobina A1. A freqüência do gene da hemoglobina C é de aproximadamente 2% entre negros americanos, é também a alteração hematológica mais freqüente na África Ocidental. A hemoglobina C cristaliza no interior do eritrócito, mas não determina a forma de foice, ou seja, não falciza. O paciente homozigoto apresentará uma discreta anemia e esplenomegalia. O hemograma revela acentuada presença de células em alvo e microesferócitos. Os heterozigotos não apresentam anemia e mostram algumas células em alvo no hemograma.

Recebido em 25/11/96
[1]Departamento de patologia Médica, Universidade Federal do Paraná Curitiba, PR. ,Brasil
[2]GR - Laboratório de Análise Clínicas e Toxicológicas.
[3]Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná.

Os pacientes com hemoglobinopatia SC herdam uma hemoglobina mutante de cada pai. A doença ocorre com uma freqüência aproximada de 1:833 nascimentos entre negros americanos e 1:400 nascimentos entre jamaicanos. Em Gana, a doença afeta cerca de 25% da população. O quadro clínico do portador de Hb SC é semelhante,porém menos intenso do que o do homozigoto para a hemoglobina S (Hb SS). Estes pacientes (Hb SC) tem uma tendência bastante aumentada para complicações trombo embólicas como o tromboembolismo pulmonar, e a necrose asséptica da cabeça do fêmur e do úmero, principalmente durante a gestação. Apresentam, ainda, uma alta incidência de anormalidades vasculares da retina, podendo causar progressiva perda da visão. Caracteristicamente cursam com discreta anemia (o nível de hemoglobina raramente está abaixo de 9 a 10 g/dL) e esplenomegalia. A análise do sangue periférico apresenta grande número de células em alvo, e ocasionalmente células com cristais rombóides. A eletroforese de hemoglobina demonstrará a presença das hemoglobinas S e C e cada qual representará cerca de 45 a 50 % da hemoglobina total. O teste de falcização será positivo. Cuidados pré e pós-operatórios que devem ser tomados, é uma prática comum realizar uma ex-sangüíneo transfusão parcial nos portadores da anemia falciforme (Hb SS), com o intuito de reduzir a concentração de hemoglobina S para menos de 50%, prevenindo assim um episódio mais grave de falcização. Os indivíduos portadores de hemoglobina SC apresentam um teor de hemoglobina S intermediário entre os homo e heterozigotos para o gene da hemoglobina S, deve-se portanto, considerar a necessidade de indicar-se uma ex-sangüíneo transfusão nos portadores de Hb SC. Esta conduta é bastante polêmica, mas de qualquer modo, o anestesista deve ter cuidados extremados para prevenir qualquer grau de hipóxia que possa precipitar uma crise falcêmica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Paciente A.V.A. (1.1 no heredograma), do sexo masculino, cor parda, 59 anos de idade, assintomático do ponto de vista hematológico, tinha uma cirurgia (safenectomia) programada. Durante a realização de exames pré-operatórios constatou-se um hemograma alterado com discreta redução nos níveis de hemoglobina e com evidentes alterações morfológicas de suas hemácias, principalmente a presença de codócitos. Negava qualquer antecedente de anemia ou outra doença hematológica, inclusive nos familiares .O exame físico não revelava icterícia e o baço não era palpável. O estudo laboratorial revelou dosagens de hemoglobina fetal e A2 normais, e a eletroforese de hemoglobina revelou duas bandas distintas, uma migrando na posição de S e outra na posição de C, e o teste de falcização mostrou-se positivo. Ficou,assim, firmado o diagnóstico de hemoglobinopatia SC. Em seguida realizou-se o estudo em seus familiares, conforme mostra o heredograma da Figura 1.

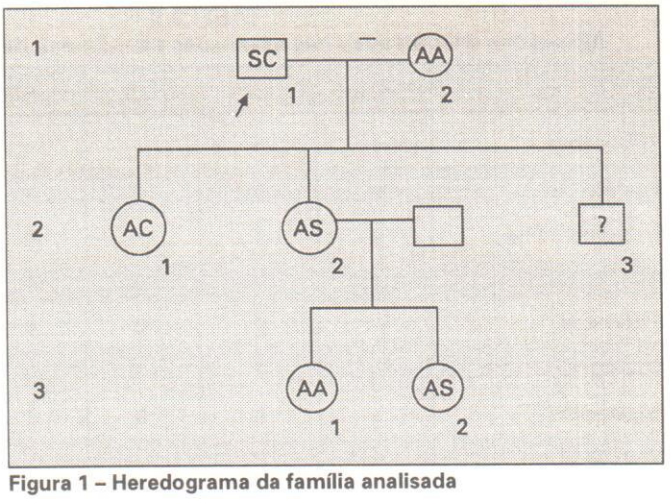


Figura 1 – Heredograma da família analisada

2.2 Métodos

Hemograma: sangue coletado com EDTA K3, na proporção de 1 mg de anticoagulante para 1 ml de sangue, e o exame foi realizado em sistema automatizado Cell Dyn 3000 Abbott Laboratories. As extensões foram coradas pelo May Grünwald Giemsa e revisadas em microscópio ótico Alphaphot 2 da Nikon.
Reticulócitos: contagem pela coloração supra vital com azul de cresil brilhante a 1% de acordo com o volume globular de cada paciente. A contagem foi realizada em microscópio ótico Alphaphot 2 da Nikon. Valores de referência (5): Homem: 0,8 a 2,5 %; Mulher: 0,8 a 4,1 %
Teste de falcização: Metabissulfito de sódio a 2%.
Eletroforese de hemoglobina e dosagem de hemoglobina A2: Filmes de gel alcalino marca Celm. Fonte de 240 volts marca Celm. Corrida realizada com tampão veronal pH 8,6 marca Celm. Leitura realizada em densitômetro modelo DS-35 marca Celm com comprimento de onda 420 nm. Valores de referência para hemoglobina A2 (9): 2,5 a 4,0 %
Hemoglobina fetal: Método de Singer (teste da desnaturação alcalina).Valores de referência (9): 0 a 2,5 %.

3. RESULTADOS

TABELA I
Valores encontrados no hemograma da família analisada

		1.1	1.2	2.1	2.2	3.1	3.2
Eritrócitos (milhões / microlitro)		4.02	4.76	5.26	4.90	5.42	4.49
Hemoglobina	g/dl	11,6	13,8	13,1	14,4	14,6	12,5
Volume globular	%	35,9	41,6	38,8	42,8	43,4	37,7
V.C.M	fentolitro	89,3	87,4	73,8	80,1	80,1	84,0
H.C.M	picogramas	28,9	29,0	24,9	29,4	26,9	27,8
C.H.C.M	%	32,2	33,2	33,8	33,6	33,6	33,2
Leucócitos	/ microlitro	8.400	5.200	10.200	7.900	17.800	8.500
Bastonetes	%	00	00	00	00	00	00
Segmentados	%	37,6	57,6	62,3	63,5	73,4	55,9
Neutrófilos	%	37,6	57,6	62,3	63,5	73,4	55,9
Linfócitos	%	41,0	29,8	28,7	24,7	19,4	31,7
Monócitos	%	10,8	8,9	6,7	9,1	6,1	8,2
Eosinófilos	%	9,4	2,9	1,9	1,9	0,6	3,6
Basófilos	%	1,2	0,8	0,4	0,8	0,5	0,6
Plaquetas	/ microlitro	298.000	369.000	371.000	364.000	310.000	287.000

TABELA II
Alterações encontradas nas extensões sangüíneas da família analisada

	1.1	1.2	2.1	2.2	3.1	3.2
Anisocitose	+	+	+	+	+	0
Pecilocitose	++	+	+	+	+	0
Policromatofilia	+	0	+	0	0	0
Acantócitos	+	0	0	0	0	0
Eliptócitos	++	0	0	0	0	0
Codócitos	++	0	0	0	0	0
Equinócitos	+	0	0	0	0	0
Micrócitos	0	0	++	+	0	0
Ponteados basófilos	0	+	0	0	0	0

TABELA III
Resultados da contagem de reticulócitos, teste de falcização, eletroforese de hemoglobina, hemoglobina fetal e hemoglobina A2 da família analisada

	1.1	2.1	2.2	3.1	3.2
Contagem de reticulócitos	5,8	1,8	5,2	3,3	3,7
Teste de falcização	positivo	negativo	positivo	negativo	positivo
Hemoglobina F	0,7				
Hemoglobina A2	0				
Eletroforeses de hemoglobina	SC	AC	AS	AA	AS

4. DISCUSSÃO

A observação de uma extensão sangüínea é extremamente importante, porque através das alterações morfológicas e quantitativas podemos estabelecer ou realizar exames específicos que nos encaminhem a um diagnóstico de uma doença hematológica. Para que possamos ter uma condição ótima de observação necessitamos de uma extensão muito bem realizada e uma coloração perfeita. Laboratórios que possuem aparelhos automatizados para a hematologia e que fazem a contagem diferencial devem revisar microscopicamente as extensões sangüíneas. Aqueles que liberam exames sem a revisão microscópica devem fazê-lo dentro de protocolos de liberação de exames bastante rígidos, porque muitas alterações podem passar despercebidas. O laboratório também deve ter a postura de realizar exames, mesmo que não solicitados, que venham a esclarecer ou corroborar com o diagnóstico hematológico. O paciente A.V.A (1.1) é um caso típico de um diagnóstico feito laboratorialmente, a partir da análise da extensão do sangue periférico.

É de fundamental importância tanto para o paciente como para o médico anestesista o conhecimento da condição de portador de hemoglobinopatia SC, para que possa ser prevenida uma possível crise de falcização no pré-operatório.

Posteriormente a família foi contactada para que o genótipo das cadeias de hemoglobina pudessem ser estabelecidos nos descendentes de A.V.A. A sua esposa A.M.A. (1.2) apresenta hemograma normal e hemoglobina normal. Sua filha (2.1) recebeu a hemoglobina normal da mãe e a hemoglobina C do pai, ficando com o genótipo AC, esta mulher não tem descendentes. A filha M.C.R. (2.2) recebeu a hemoglobina normal da mãe e a hemoglobina S do pai, ficando com o genótipo AS. M.C.R casou-se com um homem normal porque suas descendentes possuem um gene para hemoglobina normal. C.A.R. (3.1) tem o genótipo AA e E.A.R. (3.2) tem o genótipo AS. O filho (2.3) recusou-se a fazer os exames, mas com certeza ele é AC ou AS.

Com os resultados em mãos foi feito o aconselhamento genético para a família. Caso L.S.A. venha a ter filhos ela precisa saber o tipo de hemoglobina que eles herdaram, nesta situação o gene da hemoglobina C pode permanecer nos descendentes ou desaparecer. No caso de M.C.R. o gene da hemoglobina S permaneceu em seus descendentes e os filhos de E.A.R, se os tiver, deverão saber seu genótipo para os genes da hemoglobina.

A finalidade do aconselhamento genético é que o portador conheça sua condição de AC ou AS e que saiba os cuidados e em que situação deve tomá-los e realizar os mesmos exames em seus cônjuges e descendentes e acompanhar o caminho dos genes.

5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Dra. Elisabeth Meire Gonçalves Ribeiro pelas análises realizadas no GR - Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (Curitiba - Paraná).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Bunn,H.F. et al.** Molecular and cellular pathogenesis of hemoglobin SC disease.*Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 79:*7527,1982.
2. **Hoffbrand, A.V. and Pettit, J.E.** *Essential Haematology.* Oxford, Blackwell Scientific Publications, 3rd ed., 1993.
3. **Irver, G.L.** SC hemoglobin: a clinical study. *Blood, 18:* 35, 1961.
4. **Jandl, J.H.** *Bood textbook of Hemotology.* Boston, Little, Brownand Company, 2nd ed., 1996.
5. **Lee, G.R., Bitheli, T.C., Foerster, J., Athens, J.W. and Lukens, J.N.** *Wintrobe's Clinical Hematology.* Philadelphia, Lea & Febiger, 9th ed., 1993.
6. **Mazza, J.J.** *Manual of Clinical Hematology.* 2 ed. Boston: Little, Brown and Company, 1995.
7. **Miale, J.B.** *Laboratory Medicine: Hematology.* 6th. ed., Mosby Company, 1982.
8. **Motulski, A.G.** Frequency of sickling disorders in US blacks. *N. Engl. J. Med. 288:* 31, 1973.
9. **Naoun, P.C.** *Diagnóstico das hemoglobinopatias.* São Paulo: Sarvier, 1987.
10. **Qber, W.E.** Hemoglobin disease with fat embolism: report of a patient dying in crisis: autopsy findings. *Am J Med. 27:* 647, 1959.
11. **Rockoff, A.S.** Myocardial necrosis following general anesthesia in hemoglobin SC disease. *Pediatrics. 61:* 73, 1978.
12. **Wyngaarden, J.B., Smith, Jr. L.H., Bennetti, J.C.** *Cecil Textbook of Medicine.* Philadelphia, W.B. Saunders Company, 19 th ed., 1992.

Metáfases obtidas de *pool* de colônias de progenitores hemopoiéticos geradas em ensaios clonogênicos*

Metaphases from pooled colonies of haemopoietic progenitors grown in clonogenic assays

A.M. Weffort-Santos[1], V.M.M.S. Roxo[2] & S.M. Fadel[3]

RESUMO – A Citogenética continua sendo um instrumento de valor indiscutível na identificação de mudanças associadas a doenças malígnas específicas. Destaca-se sua importância fundamental no diagnóstico das leucemias e sua classificação, além de ser útil na avaliação da progressão de estágios leucêmicos ou pré-leucêmicos. Ressalta-se também que alterações cromossômicas variadas têm se apresentado como fatores prognósticos, os quais refletem no planejamento de estratégias terapêuticas. Entretanto, a análise cromossomal requer um número suficiente de metáfases com cromossomos espalhados e bem definidos. Tecidos neoplásicos, como a medula óssea leucêmica por exemplo, geralmente fornecem um número reduzido de metáfases, com cromossomos muitas vezes superpostos, mal definidos ou sem contornos claros. A morfologia de cromossomos de medula óssea, quando comparada com a técnica direta, pôde ser melhorada com a introdução de técnicas de cultivo de 24-48 horas. Neste trabalho, o número de metáfases, a morfologia dos cromossomos e as possíveis alterações cromossômicas obtidas de preparações citogenéticas realizadas sobre *pool* de colônias de progenitores hemopoiéticos de GM-CFC e BFU-E de medula óssea que se desenvolveram em ensaios clonogênicos *in vitro* são comparados com os obtidos pela metodologia de cultivo de 24-48 horas, a qual é uma das técnicas usadas na rotina de investigação citogenética de doenças hematológicas neoplásicas do Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Seção de Imunogenética da UFPR. A amostra constitui-se da medula óssea de 26 pacientes que procuram a Unidade de Transplante de Medula Óssea dessa Instituição com suspeita clínica de leucemia aguda (8/27) e crônica (18/27) no período de março de 93 a outubro de 94. Os resultados de ambos procedimentos técnicos são discutidos e ilustram como a citogenética em combinação com as técnicas de cultivo pode contribuir de forma significativa na avaliação clínico-laboratorial de pacientes portadores de neoplasias do sistema hematopoiético.
PALAVRAS-CHAVE – Cultura de células de medula óssea, ensaio clonogênico, progenitores hemopoiéticos, citogenética, leucemia mielóide crônica, leucemia mielóide aguda.

SUMMARY – Cytogenetic studies have been used as a powerful tool in identifying changes which are associated with specific neoplastic disorders. Chromosome studies are used not only for the diagnose of leukaemias but also can help to classify its sub-types. The presence of cytogenetic sub-clones can provide clues to disease progression, establishing criteria for decision-making related to therapeutic strategies. However, chromosome analysis requires a sufficient number of well spread metaphases with slim chromosomes. Usually, neoplastic tissue, such as leukaemic bone marrow, does not fill any of these requirements, giving a small number of metaphases, with overlapping of chromosomes, and the chromosomes are fuzzy and dull. The morphology of the bone marrow chromosomes, when compared to those obtained from preparations using the direct method, can be improvede using short-term culture methodology (24-48h). In this work, the number of metaphases, the morphology of the chromosomes and the detection of abnormal metaphases obtained from pool of colonies of GM-CFC and BFU-E bone marrow haemopoietic progenitors grown in clonogenic assays, are compared to those from short-term cultures. This has been one of the techniques used routinely in cytogenetic investigation of the Immunogenetics Section at Clinical Analysis Service of the Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná.
KEY WORDS – Bone marrow cell culture, clonogenic assay, haemopoietic progenitors, cytogenetic, chronic myelogenous leukaemia, acute myelogenous leukaemia.

INTRODUÇÃO

O estudo citogenético tornou-se um instrumento fundamental no repertório dos exames usados por especialistas no campo das doenças hematológicas neoplásicas, uma vez que o estudo da evolução cromossômica pode fornecer importantes indicações para acompanhamento dessas patologias.

Além disso, algumas alterações cromossômicas detectadas com certa freqüência em certos tipos de leucemias têm sido consideradas como fatores prognósticos no planejamento de estratégias terapêuticas.

A citogenética tem sido valiosa também na monitorização dos períodos de remissão dessas doenças, bem como para distinguir doador e receptor em casos de transplantes de medula óssea.

Recebido em 26/4/96
Trabalho Vencedor do Prêmio Bayer/XXIII CBAC, Foz do Iguaçu, PR, 1996
*Seção de Imunogenética, Serviço de Análises Clínicas, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.
[1] Profª Assistente, Deptº de Patologia Médica - UFPR
[2]Profª Assistente, Deptº de Genética - UFPR
[3]Seção de Imunogenética, Cultura de Células, Laboratório do Hospital de Clínicas, UFRJ.

Porém, o diagnóstico citogenético e as conclusões obtidas de seu estudo são influenciados não somente pela qualidade, mas também pelo número de metáfases analisadas.

Há amplas evidências, não só citogenéticas como também enzimáticas de que, senão todas, a maioria das doenças hematológicas malignas possuem natureza clonal.[1,4]

As colônias de progenitores hemopoiéticos, comprovadamente de origem clonal[5], por suas características de proliferação, diferenciação e maturação, têm permitido a realização de ensaios citogenéticos durante sua fase de proliferação intensiva, oferecendo oportunidade para o estudo de tipos celulares primitivos que são morfologicamente indistinguíveis, os quais podem estar presentes em pequenas quantidades e que não tenham sido normalmente detectados nas técnicas citogenéticas convencionais.

Portanto, a possibilidade de se realizar análise cromossômica de metáfases obtidas de células hemopoiéticas normais e leucêmicas de medula óssea (MO) que formam colônias em sistemas de cultura semi-sólidos (Figura 1), fez da citogenética um instrumento indispensável no diagnóstico clínico e diferencial de pacientes portadores de quadros leucêmicos, uma vez que cada vez mais observa-se associações entre alterações cromossomiais e a localização de oncogenes celulares específicos.

Neste trabalho, comparamos vantagens e desvantagens na obtenção de metáfases a partir de colônias de progenitores hemopoiéticos crescidas em ensaios clonogênicos[6,7], a partir da medula óssea de pacientes com suspeita clínica de doenças hematológicas malignas, em especial as leucemias, com o método de cultura de 24-48 horas[8,9] usado como rotina na Seção de Imunogenética do Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná como parte do critério MIC preconizado pelo grupo cooperativo FAB de classificação de leucemias.[10,11]

MATERIAL E MÉTODOS

A. Amostras

A população estudada constituiu-se da MO proveniente de 26 indivíduos com quadro clínico-laboratorial de leucemia. Destes, 18 eram suspeitos de serem portadores de leucemia mielóide crônica (LMC) e 8, leucemia mielóide aguda (LMA). Os pacientes constituíram um grupo de idade variável entre 9 e 48 anos, sendo 13 mulheres e 14 homens.

B. Coleta

As medulas ósseas utilizadas neste trabalho foram coletadas na Unidade de Transplante de Medula Óssea (TMO) do Hospital de Clínicas (HC) da Universidade Federal de Paraná, por meio de aspiração da crista ilíaca com auxílio de seringas heparinizadas e imediatamente enviadas, separadamente, à seção de Citogenética e à de Cultura de Medula Óssea, ambas do laboratório de Imunogenética do Serviço de Análises Clínicas do HC.

C. Processamento e preparo de suspensão de células de MO para análise citogenética direta e cultura de 24-48 horas

A amostra de cada paciente foi dividida em quatro frascos de cultura contendo RPMI 1640 suplementado com 30% de soro bovino fetal. Desses, dois frascos foram incubados à temperatura de 37°C por 24 horas (após o período de incubação, esses frascos seguiram a mesma metodologia descrita a seguir para a preparação direta).

Aos dois frascos restantes, adicionou-se 0,1-0,2ml de solução a 4mg% de colchicina (Colcemid-Sigma). Após 55 minutos, as amostras foram centrifugadas a 900 rpm por cinco minutos e os sobrenadantes descartados. O botão de células foi ressuspendido em 10 ml de solução de Hanks, e centrifugado como na etapa anterior e descartado novamente o sobrenadante. Um mililitro de solução hipotônica de KCl 0,075M foi usada para ressuspensão do botão de células. Em seguida, lentamente foram adicionados mais 9 ml da solução hipotônica e deixados em repouso por 30 minutos. As amostras foram mais uma vez centrifugadas a 900 rpm por 5 minutos e o sobrenadante eliminado. O material foi, então, tratado com solução fixadora preparada com metanol e ácideo acético glacial na proporção de 3:1. O tempo de exposição ao fixador variou de 15 a 30 minutos à temperatura ambiente. A seguir, o material foi centrifugado por 2 ou 3 vezes com o fixador. Na última lavagem, cerca de 1 ml do sobrenadante foi retido para ressuspensão do botão de células. Lâminas previamenmte lavadas e conservadas em água deionizada à 4°C foram utilizadas para confecção dos preparados. Duas ou 3 gotas da suspensão de células foram colocadas sobre as lâminas tratadas e deixadas secar espontâneamente. Parte das lâminas assim preparadas foram imediatamente coradas com solução de Giemsa tamponada 0,06M, pH 6,8 por 3-5 minutos.[9]

Outra parte das lâminas, após envelhecimento à temperatura ambiente por pelo menos 3 dias da preparação citológica, foi submetida à técnica de bandeamento G[12] usando-se solução de tripsina a 0,01% em tampão fosfato pH 6,8.

D. Processamento, preparo de suspensão de células de MO e cultura para obtenção de colônias de progenitores hemopoiéticos

As células de medula óssea usadas nesta etapa foram processadas de acordo com as metologias recentemente descritas para a obtenção de progenitores hemopoiéticos de GM-CFG[6] e BFU-E/CFU-E.[7]

E. Análise Citogenética

I. De metáfases obtidas pela preparação direta e após cultura de 24-48 horas.

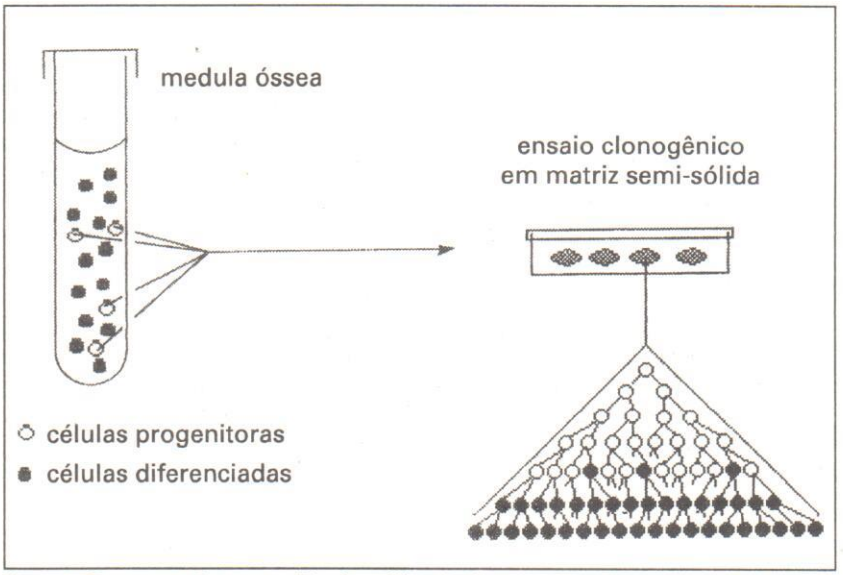


Figura 1 – Representação esquemática da proliferação de progenitores hemopoiéticos em ensaios clonogênicos onde, em condições apropriadas de cultura, proliferam, gerando colônias que expressam fenótipos específicos.

As metáfases obtidas das preparações diretas e após 24-48 horas de cultura foram analisadas com auxílio de um microscópio Zeiss Universal Axioplan. O material proveniente de pacientes com suspeita de LMC foi analisado após coloração com Giemsa para a pesquisa do cromossomo Philadelphia e, posteriormente, caso se julgasse necessário, era submetido ao bandeamento G para detecção de aberrações cromossômicas secundárias próprias de crise blástica. As lâminas de pacientes com suspeita de LMA foram tratadas com tripsina[12] e coradas com Giemsa para a detecção de aberrações cromossômicas específicas e/ou características dos diferentes subtipos leucêmicos.

2. De metáfases obtidas de pool de colônias de progenitores hemopoiéticos

A obtenção de metáfases baseou-se na técnica de que colônias de progenitores hemopoiéticos, crescidas em sistema de cultura semi-sólido enriquecido e na presença de fatores estimulantes (Figura 2), são processadas sobre lâminas de microscopia previamente tratadas com solução de poli-L-lisina.[13]

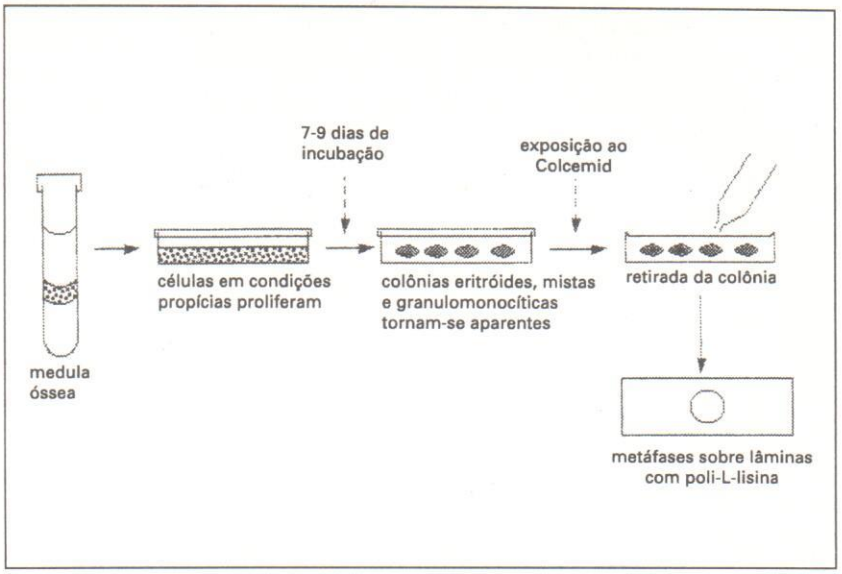


Figura 2 – Representação esquemática do método de cultura de progenitores hemopoiéticos, onde clones foram usados para obtenção de metáfases.

2.1 Preparo das lâminas: lâminas de microscopia novas, desengorduradas e limpas foram tratadas com uma solução aquosa a 0,1% de poli-L-lisina (Sigma), recobertas com lamínula e mantidas em câmara úmida à temperatura ambiente. Após duas horas, as lâminas foram submetidas à lavagem em água corrente para retirada do excesso de reativo, delicadamente secas entre folhas de papel absorvente e recolocadas em câmara úmida até serem utilizadas.

2.2 Preparação das metáfases: sobre as colônias em plena proliferação nos ensaios clonogênicos (cerca de 5-6 dias para GM-CFC e 7-9 dias para BFU-E) foram depositadas 4-5 gotas de solução de colchicina (Colcemid - Sigma) a 1 μg/ml. Após incubação a 37°C por 90 minutos, as cavidades das placas foram preenchidas com PBS estéril e, com auxílio de pipeta Pasteur, as colônias foram ressuspensas, transferidas para um tubo de centrífuga e lavadas duas vezes com PBS estéril. O botão de células foi ressuspenso em quantidade suficiente de solução de cloreto de potássio 0,075M até resultar em uma suspensão translúcida. Após 15 minutos, 4-5 gotas dessa suspensão foram depositadas sobre cada uma das lâminas previamente tratadas com poli-L-lisina e deixadas em câmara úmida até que se mostrassem aderidas quando observadas ao microscópio comum. Após fixação das mesmas, solução recentemente preparada de metanol e ácido acético (3:1) foi gotejada sobre as preparações com a finalidade de fixar as células sobre a superfífcie da lâmina tratada. Imediatamente, as lâminas foram passadas sobre uma chama de lamparina e gentilmente assopradas para que ocorresse o arrebentamento das células e, em seguida, o espalhamento dos cromossomos metafásicos presentes.

2.3 Análise citogenética: as metáfases obtidas dessas preparações foram igualmente analisadas com auxílio de um microscópio Zeiss Universal Axioplan, seguindo as técnicas de coloração e bandeamento descritas no item E.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Muitas das alterações genéticas próprias das células cancerosas são citologicamente visíveis como aberrações cromossômicas numéricas ou estruturais.

Do ponto de vista da análise citogenética, os tumores são classificados em dois grandes grupos: o primeiro, representado por leucemias e linfomas e, o segundo, por tumores sólidos, nos quais estão incluídos carcinomas e sarcomas. Por motivos de facilidade técnica, 80% dos estudos citogenéticos tratam de tumores hematológicos, embora estes representem somente cerca de 10% do total de tumores.[14] Desta forma, nenhuma célula neoplástica é tão conhecida quanto a célula leucêmica.

A metodologia atualmente utilizada nos laboratórios que tem a Citogenética como rotina na investigação clínico-laboratorial de leucemias não dispensa a técnica de cultivo de 24-48 horas, além da técnica direta[9], como é o caso do HC.

Porém, usando-se somente a técnica direta corre-se o risco de se obter um número muito reduzido de metáfases analisáveis. Ao contrário, a sobreposição de cromossomos é freqüente, muitos apresentando-se borrados, distorcidos ou enovelados.

Outro fator que parece ser limitante dessa técnica é que, particularmente na medula óssea, não há como identificar a origem celular de uma metáfase, uma vez que, presumivelmente, progenitores normais e leucêmicos, sejam eles de natureza mielóide (linhagens eritróide, megacariocítica e granulomonocítica) e/ou linfóide, coexistem em contínua proliferação.

Para superar tais situações, a literatura especializada[15] tem sugerido o uso de sistemas de cultura *in vitro*, onde condições pré-estabelecidas propiciam incremento não só do número, como também da qualidade de metáfases citogeneticamente analisáveis.[8]

A cultura de 24-48 horas aparece, então, como um recurso fundamental na obtenção não só de um maior número de metáfases, como na melhoria da qualidade desses achados, propiciando diagnósticos mais completos e seguros. Porém, ainda com esta metodologia, a origem celular das metáfases obtidas é desconhecida, uma vez que todas as células de MO coletadas são indistintamente inoculadas nos frascos de cultura.

Nas últimas duas décadas, muitas das vantagens de se cultivar progenitores hemopoiéticos pluripotentes humanos de medula óssea em ensaios clonogênicos vêm sendo amplamente difundidas. Uma dessas vantagens é a possibilidade de se avaliar citogeneticamente as colônias desses progenitores que proliferam sobre uma matriz semi-sólida, formando clones isolados.

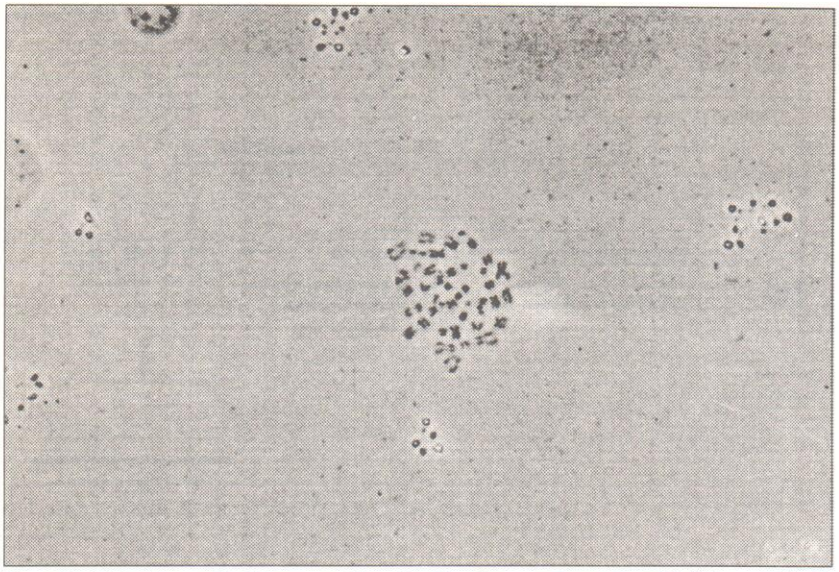


Figura 3 – Fotomicrografia de uma metáfase fixada sobre uma base de poli-L-lisina, obtida de ensaio clonogênico observada em microscopia de contraste de fase, antes de ser corada (1000x).

Nesses ensaios, progenitores hemopoiéticos podem ser detectados e reconhecidos pela sua habilidade de, em meio semi-sólido, formar colônias de células de linhagens restrita ou mista de aspecto característico: GM-CFC[16,17], para células formadoras de granulócitos e macrófagos; BFU-E e CFU-E[18], para células formadoras de eritrócitos; Mix-CFC ou GEMM-CFC, para células formadoras de colônias de linhagem mista (granulócitos, eritrócitos, macrófagos e megacariócitos).[19]

A maior vantagem apontada deste método sobre os métodos direto e de cultura de 24-48 horas é que se pode saber a origem celular das metáfases, uma vez que as colônias crescem isoladas uma das outras, são características para cada tipo de progenitor hemopoiético e, podendo ser coletadas de forma individual, permitem análise citogenética específica daquele clone.[13] A Figura 3 ilustra uma metáfase obtida em ensaios clonogênicos antes de ser corada.

Neste estudo limitamo-nos a comparar somente o número de metáfases obtidas e a quantidade de clones diferentes encontrados por dois métodos de cultura: o método de 24-48 horas, aqui denominado método I, e o dos ensaios clonogênicos, método II.

A Tabela I mostra os resultados da análise citogenética de metáfases obtidas pelos métodos de cultura de 24-48 horas e do *pool* de colônias de progenitores hemopoiéticos geradas em ensaios clonogênicos, provenientes de pacientes com suspeita de LMC.

Das 18 amostras estudadas, somente quatro ensaios não demonstraram a presença de metáfases: ensaios 10 e 17 pelo método I, e ensaios 6 e 7 pelo método II. Neste último é preciso salientar que embora tivesse ocorrido a presença de metáfases, elas não puderam ser analisadas citogeneticamente. As razões pelas quais muitas metáfases de tecidos leucêmicos apresentam-se distorcidas ou borradas quando comparadas com a morfologia de cromossomas metafásicos de tecidos normais são desconhecidas, mas é provável que estejam relacionadas ao processo leucêmico.[15]

Tais achados vêm comprovar a já conhecida dificuldade que materiais leucêmicos, muitas vezes, apresentam no laboratório na obtenção de metáfases que possam ser citogeneticamente analisadas.

Ao se comparar o número de metáfases analisáveis obtidas pelos dois métodos nos 18 ensaios realizados, verifica-se que o ensaio clonogênico parece ser, a princípio, mais vantajoso, fornecendo um número expressivamente superior de metáfases. Deve-se ressaltar que a quantidade de metáfases analisadas em um material leucêmico é extremamente importante para se confirmar uma clonalidade.

A definição citogenética padrão para "clone" requer a observação de pelo menos duas metáfases com um mesmo cromossomo extra ou a mesma anormalidade estrutural, ou de pelo menos três metáfases nas quais o mesmo cromossomo esteja ausente.[20]

Porém, um bom número de metáfases nem sempre é informativo. Como pode ser observado no ensaio 1, três aberrações cromossômicas foram encontradas pelo método II (46, XY, -18, + mar; 47, XY, +20 e 47, XY, +22), cada uma delas em uma única célula. Nenhuma dessas aberrações, entretanto, pôde caracterizar sua clonalidade, uma vez que não preencheram o requisito mínimo acima exposto.

Ao analisar-se os ensaios 2, 3, 8, 11 e 15, mesmo com um número menos expressivo de metáfases, somente o método I revelou a presença de clones normais (46, XX ou 46, XY).

A presença do cromossomo Philadelphia (Ph') é usada como um dos meios de confirmação diagnóstica de LMC, revelando a predominância de clones malignos na MO. Porém, sabe-se que a detecção concomitante de clones normais tem sido referida como um fator importante e de prognóstico favorável[21,22], uma vez que permite considerações de uma possível permanência de progenitores normais nesta medula, conduzindo o uso de estratégias terapêuticas que possam restabelecer sua proliferação. A não detecção de clones normais pelo método II sugere que fatores intrínsicos a este sistema de cultura favoreçam a proliferação de clones malignos ou que os clones normais sejam de alguma forma impedidos de se expressarem.[22]

Por outro lado, somente o método II mostrou, como observado no ensaio 8, a presença de fragmentos e quebras, sugerindo instabilidade cromossômica. É possível que este fenômeno tenha sido melhor evidenciado neste método devido, primeiro a um número maior de metáfases analisáveis obtidas (45 e 13, respectivamente, pelos métodos I e II) e segundo que, como o método II envolve um tempo muito maior de incubação (ver Material & Métodos), isso poderia favorecer o aparecimento dessas instabilidades, ou mesmo permitir sua melhor visualização.

No ensaio 17, somente o método II permitiu a detecção de 15 células poliplóides. Sabe-se que a poliploidia, dentro de um contexto de normalidade, restringe-se a tipos celulares específicos, como por exemplo, os megacariócitos.[23] Clones poliplóides são, algumas vezes, encontrados especialmente em tumores avançados e a maioria deriva da fusão de células.[20] É, portanto, possível que a poliploidia detectada esteja associada à condição neoplásica do paciente. Dessa forma, deve-se ressaltar a importância do método II na detecção dessas condições.

A presença de aberrações secundárias, como as encontradas no ensaio 18 somente pelo método II, são características de evolução clonal na LMC, ou seja, sabe-se que quando a crise blástica, fase terminal da LMC, se instala, a grande maioria dos pacientes passam a demonstrar esses tipos de anormalidades cariotípicas. Neste sentido, o método II mostra-se novamente vantajoso em relação ao método I ao permitir a evidenciação citogenética clara de um avanço da doença, muitas vezes sem ainda ter havido expressão clinicamente detectável de sinais e sintomas dessa evolução.

TABELA I
Pacientes com suspeita clínica de leucemia mielóide crônica. Cariotipagem por dois métodos de cultura - Hospital de Clínicas, Curitiba - UFPR, 1993/4

Ensaio	Sexo	Cultura de 24 horas (Método I)		Ensaio Clonogênico (pool) (Método II)	
		Número de metáfases	Cariótipo [nº de metáfases]	Número de metáfases	Cariótipo [nº de metáfases]
1	M	20	46, XY [20]	20	46,XY,-18,+mar[1] 47,XY,+20[1] 47,XY,+22[1] 46,XY[17]
2	F	10	46,XX,Ph'[9] 46,XX [1]	6	46,XX,Ph'[6]
3	F	10	46,XX,Ph'[7] 46,XX[3]	50	46,XX,Ph'[50]
4	M	10	46,XY,Ph'[10]	11	46,XY,Ph'[11]
5	M	12	46,XY,Ph'[12]	15	46,XY,Ph'[15]
6	M	20	46,XY,[20]	–	não analisáveis
7	F	10	46,XX, Ph'[10]	–	não analisáveis
8	M	13	46,XY,Ph'[12] 46,XY, [1]	45	46,XY,Ph'[45] fragmentos quebras
9	M	9	46,XY,Ph'[9]	22	46,XY,Ph'[22]
10	M	–	s/metáfases	23	46,XY,Ph'[18] 46,XY [5]
11	F	12	46,XX,Ph'[9] 46,XX[3]	33	46,XX,Ph'[33]
12	F	12	46,XX,Ph'[12]	30	46,XX,Ph'[30]
13	M	4	46,XY,[4]	15	46,XY,[15]
14	M	5	46,XY,Ph'5	18	46,XY,Ph'[18]
15	F	20	46,XX,Ph'[16] 46,XX [4]	20	46,XX,Ph'[20]
16	F	11	46,XX,Ph'[11]	5	46,XX,Ph'[5]
17	M	–	s/metáfases	17	46,XY[2] poliploidia[15]
18	F	11	46,XX,Ph'[11]	28	46,XX[1] 46,XX,Ph'[20] 47,XX,Ph',Ph'[3] 47,XX,Ph',Ph', quebra [1] 49,XX,Ph',Ph',+ 19[3]

TABELA II
Pacientes portadores de clínica de leucemia. Cariotipagem de células de medula óssea por dois métodos de cultura - Hospital de Clínicas, Curitiba - UFPR, 1993/4

Ensaio	Sexo	Suspeita Clínica	Cultura de 24-48 horas (Método I)		Ensaio Clonogênico (Método II)	
			Número de Metáfases	Cariótipo	Número de Metáfases	Cariótipo
1	F	LMA-M3		ND	36	46,XX*
2	M	LMA-M3		ND	50	46,XY*
3	F	LMA-M3	–	s/metáfases	10	46,XX
4	M	Trombocit.	18	46,XY,[12] 46,XY,9q-[6] 46,XY,-C,+mar	–	46,XY,-C+mar
5	F	LMA-M5		ND	24	46,XX
6	F	LMA-M3[a]	10	46,XX[8] 46,XX, t(15,17) [2]	47	46,XX
		LMA-M3[b]		ND	16	46,XX
7	F	LMMC	27	46,XX[12] 45, X, -X, -6, +8 [15]	23	46,XX
8	M	LLA	11	46,XY,[11]	1 (QI)	46,XY

* Medula Óssea criopreservada; [a] e [b] duas amostras do mesmo paciente colhidas em situações distintas; [ND] dados não disponíveis; [QI] quantidade insuficiente.

A Tabela II mostra ensaios semelhantes realizados com os métodos I e II, mas em medula óssea de pacientes com suspeita clínica de LMA.

O estudo citogenético comparativo entre os métodos I e II em pacientes com suspeita clínica de leucemia aguda ficou extremamente prejudicado devido ao fato de que 50% das amostras não puderam ser citogeneticamente estudadas pelo método I (ensaios 1, 2, 5 e 6[b]). Entretanto, algumas considerações importantes são passíveis de serem declinadas de sua análise.

O número de metáfases citogeneticamente analisáveis obtido pelo método II foi nitidamente maior. Porém, da mesma forma que para LMC, este número expressivo de metáfases não foi suficientemente informativo quanto ao obtido pelo método I. Neste, como demonstrado nos ensaios 4, 6 e 7, pelo menos três diferentes clones anormais puderam ser evidenciados (ensaio 4: 46, XY, 9q-; ensaio 6: 46, XX, t(15,17); ensaio 7:45, X, -X, -6, +8). Esses resultados confirmam nossas suposições anteriores de que o método II possa selecionar um ou mais tipos de clones, de acordo com as condições de cultura, ora inibindo ora estimulando sua proliferação.[24]

É necessário ainda ressaltar a detecção da aberração do ensaio 6, t(15;17), somente pelo método I, a qual é específica para o subtipo leucêmico LMA-M3 e extremamente importante na definição da estratégia terapêutica. É possível que a ausência de metáfases apresentando essa aberração no método II deva-se ao fato de que, novamente, as condições de cultura tenham favorecido a expressão de clones citogeneticamente normais em detrimento dos malignos.

Outras aberrações detectadas no método I e ausentes no método II merecem maiores reflexões que se correlacionem com a clínica do paciente, objeto não pertinente neste estudo. Porém, sem dúvidas, devem ser submetidas a mais profunda investigação.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Parece claro que a maioria das alterações cromossômicas não ocorre de forma casual ou aleatória, mas sim de maneira consistente ou até, em alguns casos, específica, como a translocação observada entre os cromossomos 15 e 17 na leucemia promielocítica aguda.

A citogenética, aliada a achados morfológicos, citoquímicos e imunológicos (critério FAB-MIC) tem auxiliado e enriquecido a caracterização dos diferentes subtipos leucêmicos e até os têm subdividido em novas entidades, dando valioso apoio ao diagnóstico clínico e diferencial dos quadros leucêmicos.

Em um estudo relativamente simples como o nosso, onde duas metodologias de cultura de células são comparadas com o objetivo de se obter metáfases citogeneticamente analisáveis, pelo menos 15 aberrações cromossômicas puderam ser encontradas ou em um ou em outro método (às vezes em ambos).

A possibilidade de se utilizar mais de um método de investigação do repertório citogenético em pacientes com suspeita de neoplasias do sistema hematológico demonstrou em nosso estudo uma série de vantagens, pois onde um aparece com dificuldades, o outro deflagra novas combinações e possibilidades.

Portanto, os resultados preliminares das duas metodologias aqui discutidos ilustram como a citogenética, em combinação com as técnicas de cultivo, pode contribuir de forma significativa na avaliação clínico-laboratorial de pacientes portadores de neoplasias do sistema hematopoiético.

Nossos esforços agora se concentrarão no estudo citogenético de colônias hemopoiéticas individuais, o qual poderá trazer contribuições não só para o diagnóstico etiológico, como também para a possibilidade de se avaliar o estagiamento das neoplasias hematológicas, colaborando muito nas suas avaliações de prognóstico e, conseqüentemente, nas alternativas para seu tratamento.

AGRADECIMENTOS

Ao corpo médico da Unidade de Transplante de MO do Hospital de Clínicas - UFPR., especialmente Dr. R. Pasquini e Dr. M.A. Bittencourt, pelas amostras de MO; ao Professor Dr. F.L. Martins, chefe do Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clinicas - UFPR; à Farmacêutica N. Farah, responsável pela Seção de Imunogenética, pelas facilidades laboratoriais; à Dra. N.G. Testa, Paterson Institute for Cancer Research, Manchester, Inglaterra, pelo fornecimento de material usado como controle; ao Professor Dr. I.J. Cavalli, por tornar possível a realização deste estudo comparativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Fialkow, P.J.; Denman, A.M.; Jacobson, R.J. & Loventhal, M.M.** - Chronic myelocytic leukemia: origin of some lymphocytes from leukemic stem cells. *J. Clin. Invest., 62*: 815-19, 1978.
2. **Fialkow, P.J.; Martin, P.J. & Najfeld, V.** - Evidence for a multistep pathogenesis of chronic myelogenous leukemia. *Blood, 58*: 158-62, 1981.
3. **Fialkow, P.J.; Singer, J.W.; J.W. Adamson; Vaidya, K.; Dow, L.W.; Ochs, J. & Moohr, J.W.**- Acute nonlymphocyte leukemia: heterogeneity of stem cell origin. *Blood, 57*: 1068-1073, 1981.
4. **Nowell, P.C.** - Tumors as clonal proliferation. *Virchow Arch [Cell Pathol], 29*: 145-150, 1978.
5. **Fialkow, P.J.; Denman, A. M.; Singer, J.; Jacobson, R.J. & Lowenthal, *M.N.*** Human myeloproliferative disorders: clonal origin in pluripotent stem cells. *In*: **B. Clarkson, P.A. Marks and J.E. Till** (Eds.), *Differentiation of normal and neoplastic hematopoietic cells. Cold Spring Harbor Conferences or Cell Proliferation,* Vol. 5. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1978, pp. 131.
6. **Weffort-Santos, A.M.; Chimelli, M. & Fadel, S.M.**- Proliferação, diferenciação e caracterização de progenitores hemopoiéticos GM-CFC *in vitro. Rev. Bras. Anál. Clín. 26(1)*:7-11, 1994.
7. **Weffort-Santos, A.M.; Chimelli, M.; Fadel, S.M.; Mello, L.M. & Andrighetti, C.R.** - Detecção de progenitores hemopoiéticos eritróides (BFU-E e CFU-E) em medula óssea, sangue de cordão umbilical e sangue periférico usando rh-EPO. *RBAC, 27*: 19-24, 1995.
8. **Knuutila, S.; Vuopio, P.; Elonen, E.; Siimes, M.; Konaven, R.; Borgström, G.H. & Chapelle, A.** d.1. - Culture of bone marrow reveals more cells with chromosomal abnormalities than the direct method in patiensts with hematologic desorders. *Blood, 58*:369-375, 1981.
9. **Williams, D. L.; Harris, AZ.; Williams, K.J.; Brosius, M.J. & Lemonds, W.** - A direct bone marrow chromosome technique for acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet, Chichester, 13*: 239-257, 1984.
10. **Bennett, J.M.; Catovsky, D.; Daniel, M.T.; Flandrin, G.; Galton, D.A.G.; Gralnick, H.R. & Sultan, C.** - Proposals revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia: a report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern. Med., 103*: 620-625, 1985.
11. **Bennett, J.M.; Roland, B.; Catovsky, D.; Flandrin, G.; Foon, K.A.; Gralnick, H.R.; Griffin, J. D.; Hagemeijer, a.; Merucci, C.; Minowada, J.; Mitelman, F.; Preud'Homme, J.L.; Sandberg, A. & Berghe, H.V.d.**- Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of the acute myeloid leukaemias. *Br. J. Haematol., 68*: 487-494, 1988.
12. **Scheres, V.M.J.C.** - Identification of two robertsonian translocation with a Giemsa banding-*Humangenetik, 15*: 253-256. 1972.
13. **Dubé, I.D.; Eaves, C.J.; Kalousek, D.K. & Eaves, A.C.**- A method for obtaining high quality chromosome preparations from single hemopoietic colonies on a routine basis. *Cancer Genet. Cytogenet., 4*: 157-168, 1981.
14. **Heim, S. & Mitelman, F.** - Primary chromosome abnormalities in human neoplasia. *Adv. Cancer Res., 52*: 1-43, 1989.
15. **Hossfeld, D.K. & Weh, H.J.**, Cytogenetics in leukemia: implications for pathogenesis and prognosis. *In* (Eds.), *Recent Advances in Cancer Research,* Vol. 93. Spring-Verlag Berlin, Heidelberg, 1984, pp.
16. **Bradley, T.R. & Metcalf, D.** - The growth of mouse bone marrow cells *in vitro. Aust J. Exp. Biol. Med. Sci., 44*: 287, 1966.
17. **Pluznik, D.H. & Sachs, L.**- The cloning of normal "mast"cells in tissue culture. *J. Cell Comp. Physiol., 66*: 319, 1965.
18. **Iscove, N.N.; Sieber, F. & Winterhalter, K.H.**- Erythroid colony formation in cultures of mouse and human bone marrow; analysis of the requirement for erythropoietin by gel filtration and affinity chromatography on agarose-concavalin A. *J. Cell Physiol., 83*: 309-320, 1974.
19. **Nakahata, T. & Ogawa, M.** - Identification in culture of a class of haemopoietic colony-forming units with extensive capacity to self-renew and generate multipotential hemopoietic colonies. *Proc. Natl. Acad. Sci.* U.S.A., *79*: 3843, 1982.
20. **Dewald, G.W.; Morris, M.A. & Lilla, V.C.**, Chromosome studies in neoplastic hematologic disorders. *In* **K.D. McClatchey (Eds.)**, *Clinical laboratory medicine,* Vol. Willians & Willians, Baltimore, 1994, pp. 703-740.
21. **Sakurai, M.; Hayata, I. & Sadberg, A.A.** - Prognostic value of chromosomal findings in Ph'-positive chronic myelocytic leukemia. *Cancer Research, 36*: 313, 1976.
22. **Kalousek, D.K.; Eaves, C.J. & Eaves, A.C.** - *In vitro* cytogenetics swtudies iof haemopoietic malignances. *Cancer Survey, 3*:439, 1984.
23. **Lee, G.R.; Bithell, T.C.; Foerster, J.; Athens, J.W. & Lukens, J.N.** - *Wintrobe's clinical hematology.* 9 ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1993, p.
24. **Dubé, I.D.; Gupta, C.M.; Kalousek, D.K., Eaves, C.J. & Eaves, A.C.**- Cytogenetic studies of early myeloid progenitor compartments in Ph'-positive chronic myeloid leukemia (CML). I. Persistence of Ph'-negative committed progenitors that are suppressed from differentiating in vivo. *Brit. J. Haematol., 56*:633.

Avaliação *"in vitro"* da ação de EMLA (creme de prilocaína + lidocaína) em relação aos níveis sangüíneos de metahemoglobina*

"In vitro" evaluation of the EMLA (cream of prilocain + lidocain) action and its relation to the blood levels of methaemoglobin

Mônica Bortolini[1], Marcelo Porto[3], Renato Procianoy[3] & Jarbas R. de Oliveira[2]

RESUMO – O presente trabalho tem como objetivo determinar, "*in vitro*", a velocidade que o EMLA pode provocar metahemoglobinemia, e se sua formação é proporcional à concentração do creme no sangue. Verificamos que a formação de metahemoglobinemia ocorre logo após o contato do creme com o sangue, alcançando pico máximo já no primeiro minuto. Observamos, também, que a formação de metahemoglobinemia é proporcional à concentração de EMLA no sangue, atingindo valores de 39%, quando a concentração de EMLA é de 8,3 mg/ml de sangue. Nossos resultados sugerem que o uso de EMLA deve ser acompanhado por um controle nos níveis de metahemoglobina.
PALAVRAS-CHAVE – EMLA, metahemoglobina.

*SUMMARY – This study aims to determine, "*in vitro*", the velocity that EMLA can provoke methaemoglobinaemia and if its formation is proportional to the cream blood concentration. We have noticed that the methaemoglobin formation occurs as soon as the cream contacts the blood. Reaching maximum peak on the first minute. We have also observed that the methaemoglobin formation is proportional to the EMLA blood concentration, reaching values up to 39%, when the EMLA concentration is 8,3 mg/ml of blood. Our results suggests that the use of EMLA must be accompanied by the control of methaemoglobin levels.*
KEY WORDS – EMLA, methaemoglobinaemia.

I - INTRODUÇÃO

A metahemoglobinemia (HbM) é um pigmento marrom que resulta da oxidação do íon ferro da hemoglobina, que passa do estado ferroso (Fe^{++}) para o férrico (Fe^{+++}). Como metahemoglobinemia, a hemoglobina não transporta o oxigênio, provocando alterações no metabolismo celular que podem levar ao óbito.[3]

Existem vários agentes metahemoglobilizantes, principalmente em relação à toxicologia ocupacional, sendo as aminas aromáticas e os compostos nitrosos aromáticos, os mais destacados.[5]

Com relação a medicamentos, o uso de anestésicos como o creme de Lidocaína-Prilocaína a 5% (EMLA), principalmente em crianças, tem sido citados como causa de indução de HbM.

O creme EMLA é uma mistura eurética de lidocaína e prilocaína, suspensa numa emulsão de óleo em água, contendo 50% de cada princípio ativo.[3] Este creme é usado como anestésico local quando aplicado topicamente em peles intactas.[1]

Em estudos prévios[5], o creme EMLA foi aplicado em crianças com idade entre 3 e 12 meses. A máxima concentração de prilocaína e lidocaína foi 155 e 131 ng/ml de plasma, respectivamente. Neste estudo, a concentração de HbM mostrou-se significativamente aumentada, porém não atingiu o limite superior considerado normal para pessoas sadias (2%). Não foi encontrada uma relação entre os níveis plasmáticos de prilocaína e lidocaína, com os de HbM[5]. É importante destacar que o metabólito ativo, responsável pela indução de HbM, e que está presente na prilocaína do EMLA é a ortotoluidina; por outro lado, não encontrou-se relação alguma com os níveis aumentados de HbM em relação à lidocaína.[4]

Como mecanismo de ação acredita-se que a redução *"in vivo"* de HbM depende da concentração intracelular de NADH e de citocromo b5, mas a atividade catalítica de HbM redutase (citocromo b5 redutase) é provavelmente o fator limitante. Supõe-se que exista correlação entre a atividade da enzima e a concentração de HbM.[5]

Em recém-nascidos parece que a indução do pigmento é maior devido à falta de metahemoglobina redutase, que é a enzima responsável pela redução do íon ferroso a férrico, transformando, novamente, HbM em oxihemoglobina.

Apesar de vários estudos *"in vivo"* mostrarem que o EMLA pode provocar metahemoglobina, não encontramos, na bibliografia pesquisada, valores de HbM sangüínea acima dos níveis considerados normais para indivíduos sadios que utilizaram o creme.

Em face do exposto, resolvemos estudar *"in vitro"* a formação do pigmento submetido à ação do EMLA.

O nosso estudo objetiva determinar a velocidade que o EMLA pode provocar metahemoglobinemia, e se sua formação é proporcional à concentração do creme no sangue.

Recebido em 14/02/97
[1]Acadêmica do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Bolsista de Iniciação Científica do CNPq.
[2]Farmacêutico e Bioquímico pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Coordenador do Laboratório de Pesquisas Biomédicas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
[3]Departamento de Pós-graduação em Medicina Pediátrica.
*Trabalho desenvolvido no Laboratório de Pesquisas Biomédicas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

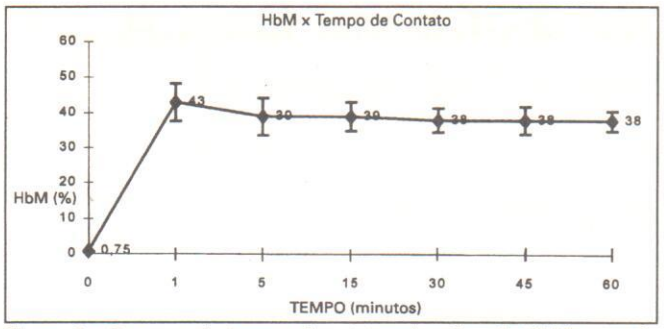


Figura 1 – Decurso de tempo das determinações de HbM, quando submetidas à ação de 8,3 mg de EMLA por ml de sangue. Os resultados exibidos são as médias ± SD de 4 experimentos. (*p<0,001)).

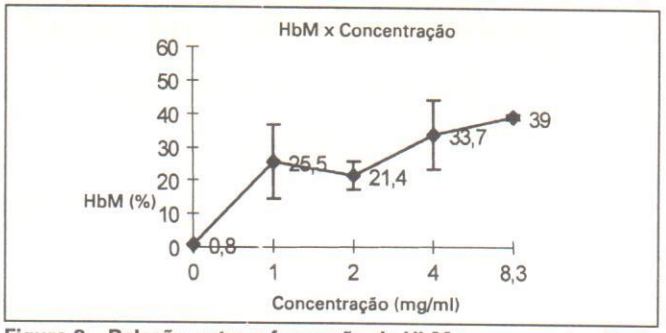


Figura 2 – Relação entre a formação de HbM e a concentração de EMLA no sangue. O tempo de incubação para as diferentes concentrações foi de 10 minutos. Os resultados exibidos são as médias ± SD de 4 experimentos. (*p<0,01).

II - MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de sangue de pessoas adultas saudáveis, coletadas em tubos com EDTA. Por questões éticas, não realizamos a coleta de sangue em recém-nascidos, já que a coleta nestes pacientes só é feita se estritamente necessário, devido à baixa volemia.

Para realizarmos a curva de formação de HbM com relação ao tempo, adicionamos 8,3 mg de creme por ml de sangue. Esta concentração foi determinada partindo-se do princípio que utiliza-se 2 ml do creme, numa superfície de 16 cm^2 de pele. Supondo-se que todo o creme seja absorvido por uma criança que tenha 240 ml de sangue, como volemia total, a concentração final, de EMLA, na criança será de 8,3 mg/ml de sangue, o equivalente em prilocaína a 208 μg por ml de sangue. Os tempos de incubação foram de 1, 5, 15, 30, 45 e 60 minutos, iniciando-se a contagem após a utilização de EMLA.

Após a determinação do tempo de ação de EMLA x HbM, e considerando-se que esta seria a concentração máxima encontrada no sangue de crianças que utilizam o EMLA, foram realizadas diluições a partir de 8,3 mg/ml, obtendo-se concentrações de 1, 2 e 4 mg/ml.

O método utilizado para a realização das dosagens de HbM baseia-se no de Evelin & Malloy [6,7]. O espectrofotômetro utilizado, para a leitura das concentrações, foi o modelo U-2000 da Hitachi. O creme EMLA é de Merrel Lepetit Farmacêutica.

Consideramos significativa a diferença entre zero e os demais valores, quando $p<0,001$, para o gráfico da Figura 1, e $p<0,01$ para o gráfico da Figura 2, analisados pela Análise de Variância (ANOVA), com comparações de grupos por Student-Newman-Keuls (SNK).

III - RESULTADOS

Ao realizarmos a curva de tempo, com uma concentração de 8,3 mg/ml de EMLA, verificamos que a formação de HbM é imediata e que dentro de 1 minuto chega a valores de 43%, mantendo-se neste patamar até um tempo de 60 minutos de incubação. Os valores obtidos foram de 0,75, 43, 39, 39, 38, 38 e 38%, para os respectivos tempos: zero, 1, 5, 15, 30, 45 e 60. Estes dados podem ser visualizados na Figura 1 .

Após determinarmos a relação temporal entre o EMLA e a formação de HbM, realizamos dosagens com concentrações crescentes do creme no sangue, partindo de 1 mg de creme por ml de sangue. Utilizou-se para isto o tempo de incubação de 10 minutos, igualmente para todas as concentrações. Pode-se notar através da Figura 2, que com 1 mg/ml de creme temos um aumento significativo de HbM, com relação aos níveis basais e que este é praticamente proporcional ao aumento da concentração do creme anestésico. Os valores encontrados foram de 0,8, 25, 5, 21, 4, 33, 7 e 39%, referindo-se às concentrações de zero, 1, 2, 4 e 8,3, respectivamente.

IV - DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Como podemos ver nos resultados, a formação de HbM é praticamente instantânea quando em contato com o EMLA e, também, é proporcional à concentração do creme no sangue.

Normalmente, o creme é utilizado 60 minutos antes do procedimento de retirada de sangue, administração de soluções parenterais, etc., que é o tempo suficiente para produzir analgesia. Podemos verificar que se for absorvido cerca de 12% da dose máxima utilizada, ou seja, atingir valores de 1 mg/ml, a concentração de HbM será de 25,5%, o que é considerado nocivo ao metabolismo celular. Os dados obtidos referem-se às dosagens realizadas em adultos, sendo que podem ser agravados em crianças, pois, como já citado, estas possuem deficiência da enzima HbM redutase[5], que transforma HbM em oxihemoglobina.

Engberg e colaboradores, realizando estes experimentos *"in vivo"*, não encontraram correlação entre os valores de prilocaína e àqueles de HbM produzidos. Ao passo que em nosso trabalho *"in vitro"*, encontramos uma boa correlação. Esta diferença pode ser devido à concentração, de prilocaína utilizada, ter sido mais elevada, comparada com o trabalho de Engberg. Então, conclui-se que o uso de EMLA deve ser cauteloso, principalmente quando seu uso está indicado para recém-nascidos, tendo-se sempre o cuidado de usar doses terapeuticamente recomendadas, pois pode induzir um quadro de cianose, que quando severo, pode levar à morte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Steward, D.J.** - Eutetic mixture of local anesthetics (EMLA): What is it? What does it do? *The Journal of Pediatrics, 122*: S21-S23, 1993.
2. **Farrington, E.** - Lidocaine 2,5%, prilocaine 2,5% EMLA cream. *Pediatrics Nurs*, Sep-OOct; *19*(5):484-6, 488, 1993.
3. **Taddio, A. & cols.** -Safety of lidocaine-prilocaine cream in the treatment of preterm neonates. *The Journal of Pediatrics, 127* (6):1002-1005, 1995.
4. **Engberg, G.; Danielson, K.; Henneberg, S. & Nilsson, A.**- Plasma concentrations of prilocaine and lidocaine and methaemoglobin formation in infants after epicutaneous application of a 5% lidocaine-prilocaine cream (EMLA). *Acta. Anaesthesiol Scand, 31:*624-628, 1987.
5. **Nilsson, A. & cols.** - Inverse relationship between age-dependent erythrocyte activity of methaemoglobin reductase and prilocaine-induced methaemoglobinaemia during infancy. *British Journal of Anaesthesia, 64:* 72-76, 1990.
6. **Dusse, L.M.S. & cols.** -Estudo comparativo de métodos analíticos para dosagens de metemoglobina no sangue. *Rev. Bras. Anál. Clín., 28* (2): 68-70, 1996.
7. **Dacie, J.V.; Lewis, S.M.** - *Practical haematology.* 7 ed. New York, Churchill Livingstone, 1991, 556 p.

Endereço para correspondência:
Mônica Bortolini
Rua Miguel Tostes, 874 ap. 201
Rio Branco - Porto Alegre/RS
CEP 90430-060.

Diagnóstico de infecção por *Helicobacter pylori**

Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection

*Vincent K. S. Leung** & Joseph J. Y Sung***

RESUMO – Pode-se atualmente contar com diversos métodos confiáveis para o diagnóstico de infeção por *Helicobacter pylori*. Esses testes diagnósticos classificam-se em métodos invasivos, que exigem endoscopia e biópsia gástrica, e métodos não invasivos. Os métodos invasivos incluem biópsias da mucosa gástrica obtidas por endoscopia, para cultura bacteriológica, exame histológico e o teste rápido de urease. Os métodos não invasivos incluem o teste de uréia do ar exalado e testes sorológicos. Cada um desses testes diagnósticos apresenta suas vantagens e desvantagens. O exame histológico continua sendo o padrão-ouro de referência para diagnóstico. Este teste pode também detectar formas cocóides da bactéria e ser utilizado para avaliar a severidade das gastrites. A cultura da *H. pylori* deve ser realizada quando for necessário averiguar a sensibilidade do organismo a antibióticos. O teste rápido de urease é o teste mais rápido para detectar a presença da *H. pylori*. O teste de uréia no ar exalado detecta a atividade da urease em todo o estômago, eliminando assim a possibilidade de um erro de amostragem, que pode ocorrer em biópsias gástricas aleatórias. Testes sorológicos com emprego do método ELISA ou o método de aglutinação de látex são excelentes para diagnóstico de infecção por *H. pylori*, mas inúteis na monitorização dos efeitos da terapia. Recentemente, a reação em cadeia da polimerase foi utilizada em biópsia de tecido fixado, assim como de secreções corporais para diagnóstico de infeção por *H. pylori*.
PALAVRAS-CHAVE – Úlcera gástrica, úlcera duodenal, PCR, teste de ar exalado.

SUMMARY – A number of reliable methods are currently available for the diagnosis of Helicobacter *pylori infection. These diagnostic tests can be classified into invasive methods that require endoscopy and gastric biopsy, and noninvasive methods. Invasive methods include gastric mocosal biopsies at endoscopy for bacteriologic culture, histology, and the rapid urease test. Noninvasive methods include the urea breath test serologic tests. Each of these diagnostic tests has its advantages and disadvantages. Histologic examination remains the gold standard for diagnosis. It can also detect coccoidal forms of the bacteria and be used to assess the severity of gastritis. Culture of* H. pylori *should be performed if antibiotic sensitivity of the organism is required. A rapid urease test is the quickest test for* H. pylori *status. The urea breath test detects urease activity in the entire stomach, thus eliminating the possibility of a sampling error, which occurs in random gastric biopsies. Serologic tests using either ELISA or latex-agglutination methods are excellent for diagnosis of* H. pylori *infection, but not useful for monitoring effects of therapy. Recently, the polymerase chain reaction has been applied to fixed-tissue biopsies, as well as body secretions in the diagnosis of* H. pylori *infection.*
KEY WORDS – Gastric ulcer, duodenal ulcer, PCR, breath test.

A descoberta da *Helicobacter pylori*, uma bactéria Gram-negativa de forma curva residente no estômago humano, por Marshall e Warren[1] revolucionou os conceitos de patogenia, bem como o controle de diversas condições gastrointestinais, inclusive gastrites, úlceras pépticas, adenocarcinoma gástrico e linfoma gástrico. Após uma década de intenso debate sobre a sua importância clínica, uma reunião dos Institutos de Saúde dos EUA [U.S. National Institute of Health (NIH)] em 1994, recomendou por consenso o tratamento de infeções pela *H. pylori* como terapia de primeira linha para todas as úlceras gástricas e duodenais.[2] Estudos clínicos têm mostrado que o tratamento de infeções por *H. pylori* está associado à cura de úlceras gástricas[3] e úlceras duodenais[4], mesmo quando não associado a outros agentes cicatrizantes de úlceras. Mais significativamente, esse tratamento leva a uma redução significativa na reincidência de úlceras.[3,5] Esses avanços levaram ao desenvolvimento de uma diversidade de testes para o diagnóstico de infeção pela *H. pylori* e para a monitorização dos efeitos do tratamento (v. Quadro 1). Cada teste tem suas próprias características, vantagens e desvantagens, mas nenhum é perfeito.

As técnicas para a detecção da *H. pylori* podem ser classificados em métodos invasivos, que exigem a endoscopia e biópsia gástrica, e métodos não invasivos, que não requerem endoscopia.

Testes invasivos

Histologia. A visualização histológica direta do organismo continua sendo o "padrão-ouro" de referência contra o qual são confrontados todos os demais testes de detecção da *H. pylori*.[6] A sua sensibilidade e especificidade são muito

Recebido em 16/04/97
*Tradução de Deny Felix Fonseca e revisto por João Ciribelli Guimarães, do artigo publicado no JIFCC, vol. 8, nº 4:163-166, 1996.
**Departamento de Medicina, Prince of Wales Hosp., The Chinese University of Hong Kong, Shatin, HK.

elevadas, variando entre 95-99%.[7,8] O aspecto característico da H. pylori em amostras histológicas é o de um bacilo espiralado de 3,0 x 0,5 µm, localizado adjacente ao epitélio.[9] Os organismos podem ser encontrados no gel do muco na superfície da mucosa e nos sulcos das glândulas gástricas. A distribuição da *H. pylori* pela mucosa gástrica é com freqüência desigual. Se bem que o *antrum* pareça ser mais uniformemente colonizado, biópsias múltiplas em diferentes seções do estômago também devem ser realizadas para melhores resultados. Corantes especiais, como o Warthin-Starry e o Giemsa modificado, ressaltam a visibilidade do organismo e facilitam sua detecção se comparados aos resultados com o corante convencional de hematoxilina-eosina.[10] Para confirmar a erradicação da *H. pylori* após a terapia antimicrobiana, o Grupo de Trabalho do Congresso Mundial de Gastroenterologia de Sydney (*Sydney World Congress of Gastroenterology*) recomendou repetir a biópsia pelo menos quatro semanas após o término do tratamento.[11]

Recentemente, uma forma cocóide da *H. pylori* foi descrita como sendo a forma dormente desta bactéria.[12] De vez que as formas cocóides da *H. pylori* não se reproduzem em cultura de agar, o exame histológico é o único método para detectar o organismo em seu estado de dormência.[12] Além de detectar a presença da *H. pylori*, o exame histológico também oferece a oportunidade para se avaliar a gravidade da inflamação da mucosa. O exame histológico está largamente disponível, e as amostras são de fácil armazenagem e transporte. O principal inconveniente do exame histológico é o seu custo elevado. A endoscopia é necessária para a obtenção de amostras para biópsia e ocorrem despesas adicionais com o processamento e relatório.

Cultura bacteriológica

Por definição, a cultura bacteriológica é o método mais específico para o diagnóstico de infeção por *H. pylori*. Os tecidos obtidos por meio de biópsias gástricas, geralmente do *antrum*, são homogeneizados e colocados em meio enriquecido e incubados sob condição de microaerofilia. A *H. pylori* é identificada pelo aspecto da colônia, por reação Gram-negativa, por sua morfologia distintiva, e por reações bioquímicas a testes *in vitro* de urease, catalase e oxidase.[13] Quanto ao exame histológico, a cultura bacteriológica para confirmação da erradicação da *H. pylori* não deverá ser realizada antes de decorridas pelo menos quatro semanas após o tratamento.

A cultura bacteriológica é o único método para determinar a suscetibilidade do organismo a antibióticos. Isto é importante em áreas onde ocorre elevada prevalência de cepas resistentes a antibióticos e, por conseguinte, onde a terapia precisa ser orientada pela sensibilidade a antibióticos. Infelizmente, a cultura da *H. pylori* envolve um procedimento demorado e trabalhoso, que exige perícia laboratorial. Não obstante sua especificidade ser de 100%, a sensibilidade da cultura bacteriológica varia de 70-90%.[14] A fim de melhorar o rendimento da cultura, as biópsias devem ser retiradas de diferentes regiões do estômago. A cultura bacteriológica não está disponível em todas as instituições e sem dúvida não é um teste da preferência dos médicos de família em seus consultórios.

Testes rápidos de urease

A capacidade característica da *H. pylori* de produzir urease constitui a base para diversos testes diagnósticos valiosos. A urease converte a uréia, liberada pela mucosa gástrica, em amônia e bicarbonato. A resultante elevação do pH pode ser detectada por um indicador de pH. Esta reação, inicialmente desenvolvida como uma solução para teste usando o caldo de uréia de Christensen a 2%[15], é agora encontrada no mercado sob a denominação de teste rápido de urease, como, por exemplo, o teste CLO (Delta West, Bentley, Austrália).[16] Colocando-se uma biópsia gástrica em "pocinho" de agar contendo uréia e um indicador de pH pode-se comprovar a presença da *H. pylori* pela mudança de cor em uma hora. O rendimento diagnóstico deste teste pode ser melhorado testando-se diversas amostras obtidas de diferentes partes do estômago.[17] A sensibilidade e especificidade dos testes de urease são comparáveis às dos testes histológicos e de cultura.[6,7,16] Além do que, os testes de urease são mais baratos, mais rápidos e mais fáceis de realizar. Contudo, o teste rápido de urease apresenta as mesmas desvantagens dos testes de cultura e histológico, quais sejam, a necessidade de se realizar endoscopia, e a possibilidade de erros de amostragem com os pequenos fragmentos de tecido obtidos nas biópsias endoscópicas.

Reação em cadeia de polimerase (PCR) de biópsias de tecidos gástricos

Recentemente, o PCR demonstrou ser o instrumento mais promissor para o diagnóstico de infecção por *H. pylori*.[18-20] A ampliação do PCR emprega cadeias curtas de ácidos nucléicos de cordão simples, denominados *primers*, para amplificar os genes-alvo. A seqüência alvo amplificada pode então ser identificada pela eletroforese ou hibridização com uma sonda específica. Empregando-se material de biópsia gástrica, uma diversidade de seqüências-alvo de DNA foram usadas para o diagnóstico PCR, incluindo um segmento do gene 16S rRNA[18], um gene com o código de uma sub-unidade de urease[19], e uma parte do gene com o código de uma proteína espécie-específica 26-kDa.[20]

O PCR realizado em amostras de biópsias gástricas demonstrou ser o método mais sensível e específico, em comparação com o teste rápido de urease e os métodos histológicos, de cultura e sorológico.[21,22] A sensibilidade e especificidade relatadas foram de 95% e 100%, respectivamente.[21,22] Reações falso-positivas podem ocorrer se não forem realizados procedimentos adequados de limpeza e desinfecção dos endoscópios.[23] Além de proporcionar um método sensível para a detecção da infecção por *H. pylori*, o PCR também permite a classificação de diferentes cepas bacterianas[24], bem como a detecção da expressão do gene na mucosa gástrica.[25]

A presença da *H. pylori* também tem sido comprovada no suco gástrico pelo PCR com 96% de sensibilidade e 100% de especificidade.[26] Este método oferece a vantagem de não exigir endoscopia, de vez que o suco gástrico pode ser obtido por meio de um tubo nasogástrico. Além disso, o DNA da *H. pylori* foi identificado na saliva e em placa dentária com o uso de técnicas PCR.[27] A comprovação de *H. pylori* na cavidade bucal tem importantes implicações com respeito à disseminação desses organismos, porque a cavidade oral pode representar uma fonte potencial para a re-infecção após a erradicação do organismo no estômago.

Testes não invasivos

Sorológicos: O teste sorológico é o mais simples, o menos caro, e o mais largamente disponível teste diagnóstico para detectar infecção por *H. pylori*. A colonização da *H. pylori* na mucosa gástrica estimula uma resposta imunizante local e sistêmica que resulta na elevação de IgA segregado no suco gástrico e a elevação de IgG e IgA no soro.[28] Esses anticorpos, porém, não protegem contra a infecção. De vez que a infecção por *H. pylori* é crônica e a erradicação espontânea da infecção não ocorre, o nível elevado de anticorpos IgG ou IgA no soro indica infecção ativa, salvo se uma terapia antimicrobiana tiver sido ministrada.

QUADRO 1
Métodos de diagnóstico de infecção pela *H. pylori*

INVASIVOS					
	Sensibilidade	**Especificidade**	**Vantagens**	**Desvantagens**	**Aplicações Clínicas**
Histológico	95-99%	95-99%	Largamente disponível; capaz de detectar inflamação da mucosa e forma cocóide	Exige endoscopia; erros de amostragem	Suplementa o teste rápido de urease quando ela é negativa
Cultura de biópsia gástrica	70-90%	100%	Permite verificar a sensibilidade a antibiótico	Exige endoscopia; procedimento difícil; resultados variáveis, dependendo da experiência laboratorial	Em situações onde há suspeita de resistência a antibióticos
Teste rápido de urease	90-95%	95-98%	Simples; resultado rápido; barato	Exige endoscopia; erros de amostragem	Método preferido com endoscopia
Biópsia gástrica PCR	95%	100%	Muito sensível	Exige endoscopia; contaminação pode levar a resultados falso-positivos	Atualmente, empregado somente em pesquisas
NÃO INVASIVOS					
	Sensibilidade	**Especificidade**	**Vantagens**	**Desvantagens**	**Aplicações Clínicas**
Sorológico	95%	95%	Não invasivo; simples e relativamente barato	Não é apropriado para acompanhamento de terapia antimicrobiana	Triagem da população
^{13}C-teste de uréia no ar exalado	95-98%	95-98%	Não invasivo, simples e rápido	Caro, não disponível largamente	Ideal para confirmar a erradicação do *H. pylori* após tratamento em casos onde endoscopia de acompanhamento é desnecessária; preferido quando são necessários testes múltiplos
^{14}C-teste de uréia no ar exalado	95-98%	95-98%	Não invasivo, simples e rápido	Radioativo; contra-indicado em crianças e na gravidez	Ideal para a confirmação da erradicação da *H. pylori* após tratamento quando endoscopia de acompanhamento é desnecessária
Cultura de fezes	30-50%	100%	Não invasivo; proporciona sensibilidade a antibióticos	Tecnicamente difícil; baixo rendimento	Atualmente, empregado somente em pesquisa

Diversas técnicas sorológicas têm sido empregadas para a detecção de anticorpos da *H. pylori*, inclusive a avaliação quantitativa de enzimaimunoensaio (ELISA) e o teste de aglutinação de látex. O ELISA é atualmente considerado o melhor método para teste de anticorpos[29], e encontram-se no mercado diversas apresentações comerciais de estojos do ELISA para detecção de anticorpos IgG, IgA e IgM no *soro*. A sensibilidade e especificidade do ELISA ao IgG para detecção de infeção por *H. pylori* são da ordem de até 95%. [30] Os testes para IgA são menos sensíveis (60-80%), mas os anticorpos IgA podem ser detectados em alguns pacientes que não exibem resposta positiva para IgG.[31] O teste para IgM é o menos sensível (15%) e portanto de emprego limitado.[32] No teste de aglutinação de látex, uma gota de *soro* é misturada com o antígeno de *H. pylori* fornecido, e se os anticorpos para IgG para *H. pylori* estiverem presentes, verifica-se a aglutinação.[33] Enquanto que a primeira geração de testes de aglutinação utilizam o soro, está em desenvolvimento um teste para sangue total. O teste de aglutinação de látex é muito sensível (95%), mas atualmente apresenta resultados falso-positivos da ordem de 10-15%. [30] Com aperfeiçoamentos, este método pode vir a se tornar um teste diagnóstico para a clínica.

A principal desvantagem do teste sorológico é sua impraticabilidade e não ser confiável no acompanhamento pós-tra-

tamento. Os ensaios qualitativos permanecem positivos até três meses após a erradicação bem sucedida da *H. pylori*, e titulações de anticorpos da *H. pylori* levam de três a seis meses para diminuir em ensaios quantitativos.[34-36] Para se documentar uma diminuição na titulação de anticorpos, pré e pós-tratamento são necessárias amostras do soro. O teste sorológico é, não obstante, o método investigativo preferido nos estudos de populações.

Os testes rápidos para anticorpos salivares podem ainda proporcionar um outro método não invasivo para diagnóstico de infecção por *H. pylori*. Um estudo mostra que tanto a sensibilidade quanto a especificidade de anticorpos IgG foram da ordem de 85%. Assim como a pesquisa de IgA no soro, a precisão diagnóstica dos anticorpos salivares IgA também não é satisfatória.[37] Os testes rápidos para anticorpos salivares IgG podem ser úteis para detectar infecção por *H. pylori* em crianças.

Testes de uréia no ar exalado

O teste de uréia no ar exalado é outro instrumento diagnóstico baseado na capacidade da *H. pylori* produzir urease. Neste teste, uréia identificada como ^{13}C-uréia[38] ou ^{14}C-uréia[39] é administrada oralmente. Na presença da *H. pylori* a uréia identificada é convertida em amônia e ion bicarbonato, que contém o carbono identificado. Este último é então absorvido na circulação e excretado via pulmões como $^{13}CO_2$ ou $^{14}CO_2$. O dióxido de carbono identificado pode ser detectado em amostras de ar exalado coletadas 20 ou 30 minutos após a ingestão da uréia. A sensibilidade e especificidade do teste de uréia na detecção de infeção pela *H. pylori* é >95%.[40] A precisão diagnóstica dos testes de ar exalado empregando ^{13}C e ^{14}C como isótopos é semelhante.[41]

O teste de ar exalado é hoje em dia considerado o método preferido para confirmar a erradicação da *H. pylori* após terapia antimicrobiana, de vez que ele detecta a atividade da urease em todo o estômago e não exige endoscopia. Assim como os demais testes, o teste de ar exalado para acompanhamento deve aguardar pelo menos quatro semanas após o término do tratamento. Resultados falso-negativos podem ocorrer em pacientes que tenham sofrido cirurgia gástrica, presumivelmente devido ao esvaziamento rápido da uréia do estômago. O isótopo estável ^{13}C oferece a vantagem de ser não radioativo, mas a sua quantificação exige um espectrômetro de massa gasosa, que é mais caro e por conseguinte não está largamente disponível. Contudo, o uso do isótopo radioativo ^{14}C deve ser restritivo para crianças e mulheres grávidas.

Cultura de fezes

A cultura bem sucedida de *H. pylori* viável a partir de fezes humanas foi primeiramente relatada em 1992.[42] Em estudo mais recente a cultura bem sucedida da *H. pylori* a partir de fezes foi obtida em 12 de 25 pacientes comprovadamente infectados.[43] Estes resultados indicam que é possível a transmissão da infecção por *H. pylori* por via fecal-oral. A cultura de fezes também oferece a possibilidade de testar a sensibilidade a antibióticos, contudo, o método é tecnicamente exigente e o rendimento é baixo.

Aplicações clínicas

Na prática clínica. Em pacientes que necessitam de endoscopia para a investigação de suas condições gastro-duodenais, o teste rápido de urease com múltiplas biópsias fornece uma resposta rápida com precisão satisfatória. Ele é de fácil execução e barato, e a presença da *H. pylori* pode ser conhecida antes de o paciente deixar o consultório. Amostras adicionais da biópsia gástrica podem ser enviadas a exame histológico para confirmação. Quando não é necessária a endoscopia, o teste de urease no ar exalado é o preferido. Testes sorológicos como o teste qualitativo de aglutinação de látex também podem ser usados no diagnóstico da infeção por *H. pylori*. Com maior otimização, a detecção de anticorpos salivares pode ser usada na triagem de crianças.

Quando a endoscopia de acompanhamento é necessária, como no caso de úlcera gástrica, o teste rápido de urease e o exame histológico podem ser repetidos para garantir a erradicação da *H. pylori*. Nos casos em que não se faz necessário repetir a endoscopia, como nas úlceras duodenais ou gastrites crônicas, o teste de uréia no ar exalado é a melhor maneira de monitorizar a terapia. Testes de erradicação devem ser retardados pelo menos quatro semanas após o término da terapia anti-*H. pylori*. Pode-se sustentar que não é necessária a confirmação de erradicação da bactéria em todos os pacientes, de vez que é sabido que o tratamento anti-*H. pylori* apresenta uma taxa de êxito da ordem de 90-95% na erradicação da bactéria. Nos pacientes anteriormente submetidos a terapia anti-*H. pylori* mas que continuam com infecção persistente pela *H. pylori*, os testes de cultura e de sensibilidade a antibiótico são desejáveis para se decidir quanto ao melhor regime para novo tratamento.

Para pesquisa clínica

O teste sorológico é o melhor instrumento para estudos epidemiológicos baseados em populações. Em estudos clínicos comparativos de diversas modalidades de tratamento da *H. pylori* são necessários critérios rigorosos na confirmação da erradicação. Amostras para biópsia devem ser obtidas de diferentes partes do estômago, para cultura, exame histológico e o teste rápido de urease. Logan *et al.* relatou a "migração" da *H. pylori* do *antrum* e corpo para o *fundus* do estômago após o tratamento com omeprazole.[44] A biópsia do *fundus* é considerada necessária em pacientes que tenham recebido qualquer tratamento contendo omeprazole. O teste de uréia no ar exalado oferece uma vantagem distintiva por isso que podem ser evitados erros de amostragem na biópsia gástrica. O PCR, sendo o método mais sensível para detectar a presença da *H. pylori*, tanto no corpo humano quanto no ambiente, pode ser útil no estudo do modo de transmissão dessa infecção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Marshall B.J., Warren J.R.:** Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; *1*:1273-1275.
2. **NIH Consensus Conference:** *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH Consensus Development Panel on *H. pylori* in Peptic Ulcer Diseases. *JAMA* 1994;*272*:65-69.
3. **Sung J.Y., Chung, S.C.S., Ling T.K.W., *et al.*:** Antibacterial treatment of gastric ulcers associated with *Helicobacter pylori*. *New Eng. J. Med.* 1995; *332*:139-142.
4. **Hosking S.W., Ling T.K.W., Chung S.C.S., *et al.*:** Duodenal ulcer healing by eradication of *Helicobacter pylori* without anti-acid treatment: Randomized controlled trial. *Lancet* 1994; *343*:508-510.
5. **Sung J.J.Y, Chung S.C.S., Ling T.K.W., *et al.*:** One-year follow-up of duodenal ulcers after one-week triple therapy for *Helicobacter pylori*. *Am. J. Gastroenterol.* 1994;*89*:199-202.
6. **Barthel J.S., Everett E.D.:** Diagnosis of *Campylobacter pylori* infection: The "gold standard" and the alternatives. *Rev. Infect. Dis.* 1990; 12 (suppl): S107-S114.
7. **Morris A., Ali M.R., Brown P., *et al.*:** *Campylobacter pylori* infection in biopsy specimens of gastric antrum: Laboratory diagnosis and estimation of sampling error. *J. Clin. Pathol.* 1989;*42*:727-732.

8. **Wyatt J.I., Primrose J., Dixon M.F.:** Distribution of *Campylobacter pylori* in gastric biopsies. *J. Pathol.* 1988;*155*:350A.

9. **Marshall B.B.J., Warren J.R.:** Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984;*2*:1311-1315.

10. **Madan E, Kemp J, Wesblom TU, *et al.*:** Evaluation of staining methods for identifying *Campylobacter pylori. Am. J. Clin. Pathol.* 1988;*90*:450-453.

11. **Axon A.T.R.:** *Helicobacter pylori* therapy: Effect on peptic ulcer disease, in Working Party Report to World Congress of Gastroenterology Sydney 1990. *Helicobacter pylori* causal agent in peptic ulcer disease? *J Gastroenterol* Hepatol. 1991;*6*:131-7.

12. **Jones D.M., Curry A.:** The genesis of coccal forms of *Helicobacter pylori* in *Helicobacter pylori* gastritis and peptic ulcer, in Malfertheiner P. Ditschuneit H. (eds): *Helicobacter pylori, Gastritis, and Peptic Ulcer.* Berlin, Springer-Verlag, 1990. pp 29-37.

13. **Megraud F. Bonnet F. Garnier M. *et al.*:** Characterization of "*Campylobacter* pyloridis" by culture, enzymatic profile, and protein content. *J. Clin. Microbiol.* 1985;*22*:1007-1010.

14. **Riegg S.J., Dunn B.E., Blaser M.J.:** Microbiology and pathogenesis of *Helicobacter pylori; in:* **Blaser M.J., Smith P.D., Ravdin J.I.**, *et al* (eds): *Infections of the Gastrointestinal Tract.* New York, Raven Press, 1995. pp 535-550.

15. **McNulty C.A.M, Wise R.:** Rapid diagnosis of *Campylobacter*-associated gastritis. *Lancet* 1985:*1*:1443-1444.

16. **Marshall B.J., Warren J.R., Francis G.J., *et al.*:** Rapid urease test in the management of *Campylobacter* pyloridis-associated gastritis. *Am. J. Gastroenterol.* 1987;*82*:200-207.

17. **Brown K.E., Peura D.A.:** Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol. Clin. North. Am.* 1993;*22*:105-115.

18. **Hoshina S. Karn S.M., Jiang W., *et al.*:** Direct detection and amplification of *Helicobacter pylori* ribosomal 16S gene segments from gastric endoscopic biopsies. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* 1990; *13*:473-9.

19. **Valentine J.L., Arthur R.R., Mobley H.L., *et al.*:** Detection of *Helicobacter pylori* by using the polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 1991;*29*:689-695.

20. **Hammar M. Tyszkiewicz T. Wadstrom T., *et al.*:** Rapid detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy material by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 1992;*30*:54-58.

21. **Fabre R., Sobahani I., Laurent-Puig P., *et al.*:** Polymerase chain reaction assay for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens: Comparison with culture, rapid urease test, and histopathological tests. *Gut* 1994;*35*:905-908.

22. **Weiss J., Mecca J., da Silva E., *et al.*:** Comparison of PCR and other diagnostic techniques for detection of *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic patients. *J. Clin. Microbiol.* 1994;*32*:1663-1668.

23. **Roosendaal R., Kuipers E.J., van den Brule A.J.C., *et al.*:** Importance of the fiberoptic endoscope cleaning procedure for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 1944; *32*:1123-1126.

24. **Fujimoto S., Marshall B., Blaser M.J.:** PCR-based restriction fragment length polymorphism typing of *Helicobacter pylori. J. Clin. Microbiol.* 1994;*32*:331-334.

25. **Peek R.M. Jr., Miller G.G., Tham K.T., *et al.*:** Detection of *Helicobacter pylori* gene expression in human gastric mucosa. *J. Clin. Microbiol.* 1995;*33*:28-32.

26. **Westblom T.U., Phadnis S., Yang P., *et al.*:** Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by means of a polymerase chain reaction assay for gastric juice aspirates. *Clin. Infect. Dis.* 1993;*16*:367-371.

27. **Mapstone N.P., Lynch D.A., Lewis F.A., *et al.*:** Identification of *Helicobacter pylori* DNA in the mouths and stomachs of patients with gastritis using PCR. *J. Clin. Pathol.* 1993;*46*:540-543.

28. **Rathbone B.J., Wyatt J.I., Worsley B.W., *et al.*:** Systemic and local antibody responses to gastric *Campylobacter* pyloridis in nonulcer dyspepsia. *Gut* 1986; *27*:642-647.

29. **Perez-Perez G.I., Dunn B.E.:** Diagnosis of *Campylobacter pylori* infection by serologic methods, *in:* Blaser M.J. (ed): *Campylobacter pylori in Gastritis and Peptic Ulcer Disease*, New York, Igaku-Shoin, 1989, pp. 163-74.

30. **Marshall B.J.**; *Helicobacter pylori. Am. J. Gastroenterol.* 1994;89(suppl): S116-S128.

31. **Kosunen T.U., Megraud F.:** Diagnosis of *Helicobacter pylori. Curr. Opin. Gastroenterol.* 1995: 11(suppl 1):5-10.

32. **Blecker U., Vandenpla Y.:** Usefulness of specific IgM in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Pediatrics* 1994;*93*:342-343.

33. **Duggan A.E., Knifton A., Logan R.P.H., *et al.*:** Validation of two rapid blood tests for *H. pylori, Gut* 1995;*37*:A85.

34. **Kosunen T.U., Seppala K., Sarna S., *et al.*:** Diagnostic Value of decreasing IgG, IgA and IgM antibody titres after eradication of *Helicobacter pylori. Lancet* 1992;*339*:893-895.

35. **Cullen D.J.E., Cullen K.J., Collins B.J., *et al.*:** Serological assessment of *Helicobacter pylori* eradication. *Lancet* 1992;*340*:1161-1162.

36. **Hirschl A.M., Brandstatter G. Dragosics B., *et al.*:** Kinetics of specific IgG antibodies for monitoring the effect of anti- *Helicobacter pylori* chemotherapy. *J. Infect. Dis.* 1993;*168*:763-766.

37. **Patel, P., Mendall M.A., Khulusi S., *et al.*:** Salivary antibodies to *Helicobacter pylori:* Screening dyspeptic patients before endoscopy. *Lancet* 1994;*344*:511-512.

38. **Graham D.Y., Klein P.D., Evans D.J., *et al.*:** *Helicobacter pylori* detected non-invasively by the ^{13}C-urea breath test. *Lancet* 1987;*1*:1174-1177.

39. **Bell G.D., Weil J., Harrison G., *et al.*:** ^{14}C-urea breath analysis, a noninvasive test for *Helicobacter pylori* in the stomach. *Lancet* 1987;*1*:1367-1368.

40. **Holtamann G., Talley N.J.;** Clinical approach to the *Helicobacter*-infected patient, in: **Blaser M.J., Smith P.D., Ravdin J.I., *et al.*:** (eds): *Infections of the Gastrointestinal Tract.* New York, Raven Press, 1995;pp 565-587.

41. **Atherton J.C., Hymen-Taylor P., Hawkey C.J., *et al.*:** Direct comparison of ^{13}C and low dose ^{14}C as isotopic markers in the urea breath test. *Gut* 1992;*33*(suppl 2):S55.

42. **Thomas J.E., Gibson G.R., Darboe M.K., *et al.*:** Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. *Lancet* 1992;*340*:1194-1195.

43. **Kelly S.M., Pitcher M.C.L., Farmery S.M., *et al.*:** Isolation of *Helicobacter pylori* from feces of patients with dyspesia in the United Kingdom. *Gastroenterology* 1994;*107*:1671-1674.

44. **Logan R.P.H., Walker M.M., Misiewicz J.J., *et al.*:** Changes in the intra-gastric distribution of *Helicobacter pylori* during treatment with omeprazole. *Gut.* 1995; *36*:12-16.

Endereço para correspondência:
Vincent K.S. Leung, Joseph J. Y. Sung,
Departamento de Medicina, Prince of Wales Hospital,
The Chinese University of Hong Kong,
Shatin, Hong Kong.

Artigo de revisão

Diabetes mellitus – uma revisão

Parte II: Características clínicas, gerenciamento das dislipidemias em pacientes com IDDM, diagnóstico e achados laboratoriais

Diabetes mellitus – a review

Part II: Clinical Characteristics, management of dyslipidemia in IDDM patients, diagnostic and findings of laboratory

Ernesto P. de Oliveira; Luiz Gustavo P. Martins*, Sérgio Akira Uyemura & Antenor Henrique P. Pedrazzi*

Características clínicas do *Diabetes mellitus*

Os sintomas sugestivos do diabetes não são patognomônios para esta síndrome deste modo, polidipsia, polifagia e perda de peso ocorrem em outras doenças e, mesmo em diabéticos, eles não são exclusivamente relacionados à hiperglicemia e glicosúria. Este sintomas são indícios valiosos de alteração do controle metabólico, além disso sintomas de fadiga e irritabilidade podem também indicar um metabolismo ineficiente (usualmente por longo tempo).[3]

As principais características dos dois maiores tipos de DM são relacionados no Quadro 1.

Diabetes Tipo I ou IDDM

Pacientes com IDDM apresentam uma complexa sintomatologia, como descrito abaixo. A deficiência de insulina resulta em acúmulo excessivo de glicose e ácidos graxos circulantes, com conseqüente hiperosmolaridade e hipercetonemia, cuja intensidade é dependente do nível de deficiência insulínica.[3]

Sinais e sintomas

A poliúria é uma conseqüência da diurese osmótica secundária à hiperglicemia prolongada. Isso resulta em eliminação renal de glicose, água e eletrólitos na urina. O descontrole urinário noturno (enurese) devido a poliúria pode ser um sinal de diabetes inicial em crianças muito jovens. A sede é conseqüência do estado hiperosmolar, assim como a visão borrada, a qual sempre se desenvolve quando o cristalino e a retina são expostos a fluidos hiperosmolar.

A perda de peso, apesar do apetite normal ou aumentado, é comum no IDDM quando ele se desenvolve subagudamente por um período de semanas. A perda de peso é inicialmente devido a perda de água, glicogênio e estoques de triglicerídeos[3]; posteriormente, é atribuída a redução da massa muscular gerada por um desequilíbrio catabólico muscular (gliconeogênese), induzido pelos baixos níveis de insulina, levando a uma transformação de aminoácidos em glicose e corpos cetônicos.[9] Parestesias, podem estar presente no diagnóstico do IDDM, particularmente quando na fase subaguda inicial. Elas refletem uma disfunção temporária dos nervos sensitivos periféricos que usualmente é restaurada com aplicação de insulina para trazer os níveis glicêmicos para o normal e desta forma, sua presença sugere a neurotoxicidade da hiperglicemia prolongada. Quando a deficiência de insulina é severa e de início agudo os sintomas acima progridem de maneira acelerada, a cetoacidose exacerba a desidratação e a hiperosmolaridade por produzir anorexia, náuseas, vômitos, assim como por interferir na reposição oral dos fluidos. Com a ocorrência de vômitos em resposta a cetoacidose e conseqüente desidratação progressiva, mecanismos compensatórios tornam-se inadequados para manter a osmolaridade plasmática abaixo de 330 mmol/L (normal de 285 a 295 mmol/L), sob estas circunstâncias o estado de consciência fica prejudicado, pode ocorrer estorpor ou coma, nos quais se observa respiração rápida e profunda, hálito cetônico; sinais sugestivos de cetoacidose diabética. A hipovolemia produz tonturas e fraqueza devido a hipotensão ortostática, a depleção de potássio e o catabolismo geral de proteínas musculares. A progressão deste quadro pode resultar em um colapso circulatório severo.

Uma deficiência crônica de insulina pode ainda resultar em hipertrigliceridemia (usualmente acima de 1000 mg/dL [11,3 mmol/L]) e conseqüentemente podem surgir hepatomegalia, xantomas eruptivos na superfície flexora dos membros, nádegas e lipemia retinal.

Diabetes tipo II ou NIDDM

Pacientes com NIDDM também apresentam sinais e sintomas característicos, e a presença de obesidade ou uma forte

QUADRO 1
Características clínicas do diabetes no diagnóstico

	IDDM	NIDDM
Poliúria e sede	++	+
Fraqueza ou cansaço	++	+
Polifagia e perda de peso	++	–
Visão turva e recorrente	+	++
Vulvovaginite ou prurido	+	++
Neuropatia periférica	+	++
Enurese noturna	++	–
Freqüentemente assintomática	–	++
Cetoacidose	++	–

Recebido em 01/10/96
Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas.
*Farmacêuticos Bioquímicos, alunos do Curso de Aperfeiçoamento em Análises Clínicas.
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, Av. do Café, s/nº, Ribeirão Preto, São Paulo, CEP 14.040-903.

história familiar de diabetes amena também sugerem um alto risco de diabetes tipo II.

Sinais e sintomas

Os sintomas clássicos de poliúria, sede, visão borrada recorrente, parestesias e fadiga são manifestações de hiperglicemia e diurese osmótica, sendo comuns em ambos os tipos de diabetes. Contudo muitos pacientes com DM tipo II tem um início insidioso de hiperglicemia e são raramente sintomáticos neste período. Isto é particularmente verdadeiro em pacientes obesos, nos quais o diabetes pode ser identificado apenas após a detecção de glicosúria ou hiperglicemia em estudos laboratoriais de rotina. Estes pacientes, apresentam uma distribuição de gordura com acúmulo predominante nas partes superiores do corpo (abdômen, peito, pescoço e face), seguindo um padrão androgênico, o qual difere do padrão estrogênico com maior acúmulo no quadril e pernas.

Infecções crônicas da pele são comuns, pruridos generalizados e vaginite são freqüentemente os sintomas iniciais em mulheres com NIDDM. Deve-se suspeitar de diabetes em mulheres com vulvovaginite crônica por *Candida*, assim como naquelas que tem partos de bebês maiores que 4,1 kg, pré-eclâmpsia ou perda fetal inexplicada. Ocasionalmente, um homem com diabetes não previamente diagnosticado pode apresentar-se com impotência.

Gerenciamento da dislipidemia em pacientes com IDDM

Pacientes com IDDM têm risco aumentado para doença aterosclerótica, incluindo a doença cardiovascular, doença vascular cerebral e doença vascular periférica quando comparados com indivíduos não diabéticos. O IDDM também parece reduzir a proteção hormonal natural das mulheres em idade fértil contra a doença cardiovascular.

O risco excessivo de aterosclerose pode estar relacionado não apenas com o tempo do diabetes, mas também a uma combinação de vários outros fatores incluindo a dislipidemia (definida por concentrações anormais e por alterações na composição ou metabolismo de várias lipoproteínas), a hipertensão e a obesidade. Além disso, vários mecanismos relacionados a hiperglicemia e ao diabetes podem também contribuir. Estes mecanismos incluem glicosilação ou glicoxidação de várias lipoproteínas, e proteínas das paredes arteriais; nefropatia e proteinúria; doença microvascular periférica e anormalidades na função plaquetária e hemostasia. Contudo, a importância relativa dos vários fatores de risco na patogênese da aterosclerose em pacientes com IDDM não está clara. Evidências recentes indicam que a dislipidemia pode ser um importante fator de risco para doenças cardiovasculares em pacientes com IDDM e portanto, as estratégias terapêuticas devem dar ênfase igual ao controle da hiperglicemia, dislipidemia e hipertensão.[11]

Prevalência da dislipidemia

Alguns estudos revelam que pacientes com IDDM, que mantêm um bom controle glicêmico, têm níveis de VLDL e LDL normais ou baixos e níveis aumentados de HDL.[19,25] Outros estudos mostram que a hipertrigliceridemia tem maior prevalência em homens com IDDM que em não-diabéticos[17], por outro lado, a hipercolesterolemia mostrou-se menos comum em indivíduos com IDDM.[13] Contudo, outros estudos referem-se a alterações mais consistentes nas lipoproteínas em mulheres que homens, a uma aumentada prevalência de hipercolesterolemia em mulheres com IDDM, principalmente jovens, quando comparadas a não diabéticas[14], revela-se ainda aumento mais pronunciado do colesterol em mulheres com IDDM que em homens com IDDM.[22] É tentador, portanto, postular que há uma tendência aumentada de desenvolvimento de dislipidemia em mulheres com IDDM e isso pode explicar o grande aumento no risco de complicações ateroscleróticas neste grupo.[11] Entretanto, apesar de alguns estudos[13,17] não revelarem um significante excesso de dislipidemias em mulheres com IDDM, outros fatores de risco podem estar contribuindo para o excesso de aterosclerose nestas mulheres.[11]

Anormalidades nas lipoproteínas

O nível de controle glicêmico é visto como o novo determinante das anormalidades em lipoproteínas. Pacientes com IDDM e controle glicêmico irregular usualmente têm hipertrigliceridemia causada por níveis de VLDL aumentados. Estes pacientes podem também apresentar quilomicronemia e a deficiência insulínica. Este aumento deve-se à produção hepática de VLDL, por permitir o aumento da lipólise no metabolismo, bem como da redução do "clearance" de VLDL, por inibição da lipoproteína lipase (LpL). Além disso, pode ocorrer um aumento no LDL-Colesterol e redução no HDL-Colesterol.

A terapia insulínica não apenas melhora o controle glicêmico como também reduz as anormalidades das lipoproteínas. Em pacientes com IDDM a terapia insulínica, reduz o VLDL hepático e, possivelmente a síntese de apolipoproteína B. Já que a insulina induz a função dos receptores de LDL nos hepatócitos. Teoricamente a redução dos níveis de LDL com a terapia insulínica também pode ser parcialmente atribuído ao aumento do "clearance" mediado por receptores das partículas de LDL. Nos pacientes bem controlados, a atividade aumentada de LpL também pode contribuir para os níveis marcadamente baixos de triglicerídeos plasmáticos e VLDL, e níveis relativamente altos de HDL-Colesterol.

A lipoproteína (a) [Lp(a)], uma partícula estruturalmente semelhante ao plasminogênio, que carrega uma glicoproteína Apo (A); em níveis aumentados tem sido proposta como fator de risco para aterosclerose. Atualmente, sua função fisiológica não é totalmente conhecida e ainda não se justifica a dosagem em pacientes com IDDM em rotina básica.

Vários fatores afetam os níveis de lipoproteínas em IDDM. Dentre estes, o mais importante é o grau de controle glicêmico com terapia insulínica. Outro importante fator é a severidade da nefropatia diabética (pacientes com microalbuminuria tendem a ter altos níveis de triglicerídeos, VLDL, LDL-Colesterol e Apo B; e baixos níveis de HDL-Colesterol [18,23]). A obesidade tem menor efeito nas lipoproteínas de pacientes com IDDM que nos pacientes com NIDDM. Pacientes obesos com IDDM tendem a ter níveis de HDL-Colesterol reduzido e VLDL aumentado e a dieta rica em gorduras saturadas e colesterol também afeta o perfil lipídico destes pacientes.

Muitos pacientes com IDDM, embora tendo concentrações normais de lipoproteínas, tem a composição destas anormais. Vários estudos[15,16] têm notado nestes pacientes, uma razão colesterol: triglicerídeos anormalmente alta em suas partículas de VLDL. Esta anormalidade parece não ser muito influenciada pelo controle glicêmico e outras alterações deste tipo podem ocorrer. A glicosilação das apolipoproteínas, está aumentada nos pacientes diabéticos e pode, além de acelerar as modificações oxidativas, alterar as propriedades biológicas das lipoproteínas.[12]

Pacientes com IDDM, tanto pediátricos quanto adultos, pelo alto risco de doença cardiovascular, precisam ser freqüentemente avaliados para dislipidemia e controlados devidamente se necessário. Os quadros 2 e 3 mostram os valores de referência para o colesterol total e fração, e os valores que devem ser atingidos em indivíduos diabéticos.

Diagnóstico e achados laboratoriais em *Diabetes mellitus*

O diagnóstico do *Diabetes mellitus* tipo I é usualmente simples e está baseado na história, sintomas clínicos e na demonstração de hiperglicemia significante. O diagnóstico do *Diabetes mellitus* tipo II pode ser mais difícil, sendo impor-

QUADRO 2
Valores de referência de Colesterol Total e LDL-Colesterol em adultos

	Colesterol Total mg/dL [mmol/L]	LDL-Colesterol mg/dL [mmol/L]
Desejável	< 200 [5,18]	< 130 [3,37]
Limítrofes	200-239 [5,18-6,19]	130-159 [3,37-4,12]
Elevados	≥ 240 [6,22]	≥ 160 [4,14]

QUADRO 3
Objetivos terapêuticos para adultos (homens e mulheres) com diabetes

	Mínimo mg/dL [mmol/L]	Ideal mg/dL [mmol/L]
Colesterol total	< 200 [5,18]	≅ 170 [4,40]
LDL-Colesterol	< 130 [3,37]	≅ 100 [2,59]
HDL-Colesterol	> 40 [1,04]	≅ 40 [1,04]

tante na sua fase precoce para evitar desenvolvimento de microvasculopatia tardia. Em ambos os casos, no acompanhamento clínico, diagnóstico e tratamento, os testes laboratoriais são importantes.

Testes de glicose urinária e corpos cetônicos, assim como dosagens de glicose em amostras de sangue total ou plasma, obtidas sob condições basais ou após administração de glicose são muito importantes na avaliação do paciente diabético. Testes para hemoglobina glicosilada têm-se tornado útil tanto na avaliação inicial quanto no acompanhamento da efetividade do controle terapêutico. Em certas circunstâncias, determinação de insulina, nível de peptídeo-C ou outros hormônios envolvidos na homeostase de carboidratos (como glucagon e GH) podem ser úteis. Em vista do risco aumentado de aterosclerose em diabéticos, a determinação do colesterol sérico (incluindo a fração HDL-Colesterol) e triglicerídeos pode ser de grande ajuda (ver "Gerenciamento das Dislipidemias em Pacientes com IDDM").

Uroanálises

Glicosúria

Apesar dos métodos utilizados atualmente, vários problemas são associados à utilização da glicose urinária como um índice da glicose sanguínea. Em primeiro lugar, a concentração de glicose na urina da bexiga reflete a glicose sangüínea no momento em que a urina foi formada. Desta forma, a *primeira amostra* da manhã contém glicose que foi excretada durante toda a noite, e não reflete somente a glicemia da manhã. Alguns progressos na correlação glicose urinária com a glicose sanguínea podem ser obtidos se o paciente esvaziar completamente a bexiga, descartando aquela amostra e então urinar novamente meia hora mais tarde, testando apenas a *segunda amostra* quanto ao conteúdo de glicose. Ainda assim, as dificuldades em esvaziar completamente a bexiga (volume residual grande), problemas em entender as instruções e o incômodo da coleta impedem a melhor utilização deste teste. A monitorização doméstica da glicose sangüínea substitui o teste de glicosúria na maioria dos pacientes com IDDM e em muitos pacientes com NIDDM, principalmente os que recebem insulinoterapia.[3] Vários produtos comerciais são úteis à determinação da glicosúria. Atualmente os métodos de tiras reativas que são rápidos, convenientes e específico para a glicose, têm substituído os métodos mais antigos de tabletes. Um método mais atual consiste de tiras de papel impregnados com complexos enzimáticos específicos para a glicose (glicose oxidase + peroxidase) e um cromógeno que é incolor no estado reduzido. A geração enzimática do peróxido de hidrogênio, oxida o cromógeno para produzir uma cor cuja intensidade é diretamente proporcional à concentração de glicose:[1,4,6]

$$\beta\text{glicose} + O_2 \xrightarrow{GOD} \text{D-gluco-}\delta\text{-lactona} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{cromógeno reduzido} \xrightarrow{POD} \text{cromógeno oxidado (cor)} + H_2O$$

Estas tiras reativas são sensíveis para uma concentração de glicose de 100 mg/dL [5,6 mmol/L] e portanto, não reagem com concentrações menores de glicose que normalmente podem estar presentes na urina.[3] Resultados falso-positivos podem ocorrer por contaminação da urina com substâncias fortemente oxidantes como peróxido de hidrogênio ou hipoclorito. Resultados falso-negativos ocorrem pela ingestão e conseqüente excreção urinária de ácido ascórbico e ácido acetilsalicílico (agentes redutores) e os uratos também podem inibir a reação.[4,6]

A determinação da glicosúria deve ser realizada imediatamente após a coleta. Freqüentemente a urina tem bactérias e outros constituintes celulares que consomem a glicose através da glicólise. A glicose pode ser preservada em urina de 24 horas pela adição de ácido acético glacial ou benzoato de sódio.[4]

A quantificação da glicosúria pode ser feita pelos métodos da o-toluidina ou hexoquinase. Os procedimentos de glicose oxidase que usam a reação do peróxido de hidrogênio-peroxidase, não devem ser usados uma vez que, as altas concentrações de substâncias, como ácido úrico, que interferem com a reação da peroxidase e produzem resultados falsamente diminuídos. A urina usualmente necessita ser diluída antes da quantificação.[4]

Diagnóstico diferencial da glicosúria

Embora a glicosúria reflita a hiperglicemia em mais de 90% dos pacientes, duas grandes classes de glicosúria não diabéticas devem ser consideradas:

a) Glicosúria não-diabética devido a glicose: Isso ocorre quando a glicose aparece na urina apesar de haver uma normoglicemia. Desordens associadas com anormalidades do limiar renal de glicose incluindo síndrome de Fanconi, disfunção do túbulo renal proximal, falência renal crônica e desordem familiar tubular renal benigna, manifestada apenas como um defeito na reabsorção renal de glicose, com predominância em homens.

b) Glicosúria não-diabética devido a outros açúcares que não a glicose: - Lactosúria durante o período tardio da gravidez e lactação.[3]

Cetonúria

Os corpos cetônicos consistem de ácido acetoacético e seus derivados: o ácido β-hidroxibutírico e acetona. Eles estão presentes no sangue em proporções relativas de 20%, 78% e 2% respectivamente. O excesso de corpos cetônicos resultam em concentrações aumentadas no sangue (cetonemia) e sua excreção urinária (cetonúria). Isso acontece em pessoas em inanição ou com DM não controlado.[4] Outras condições podem determinar a ocorrência de cetonúria, tais como: jejum prolongado, dietas ricas em gordura, cetoacidose alcóolica e febre.[3]

Para determinação da cetonúria, as tiras reativas usam a reação do nitroprussiato de sódio. Nesta reação semiquantitativa, o ácido acetoacético, em meio alcalino, reage com nitroprussiato para produzir cor púrpura. Este teste não mede o ácido β-hidroxibutírico e, pela adição da glicina, pode ser apenas ligeiramente sensível a acetona.[4,6] Se o ácido β-hidroxibutírico for o metabólito predominante a reação pode ser falha dando resultados alterados.[3]

O mesmo método utilizado para determinação da cetonúria, pode também ser utilizado para determinação da cetonemia. Técnicas enzimáticas específicas estão disponíveis para identificar cada um dos corpos cetônicos no soro, mas estas técnicas não são necessárias na grande maioria das situações clínicas.[3,4]

Proteinúria

A proteinúria quando observada nos exames de rotina de urina é sempre o primeiro sinal de complicações renais do diabetes. Se a proteinúria é detectada, uma coleta de urina de 24 horas deve ser analisada para quantificar o grau de proteinúria (indivíduos normais excretam menos que 30 mg de proteínas por dia), o nível de excreção de creatinina e, ao mesmo tempo a creatinina sérica, devem ser determinadas para que o "clearance" da creatinina (uma estimativa do nível de filtração glomerular) possa ser calculado. Em alguns casos, proteinúria elevada, 3 a 5 g/L, surge tardiamente junto com outros achados de síndrome nefrótica tais como: edema, hipoalbuminemia e hipercolesterolemia.[3] É importante lembrar que a descoberta de proteinúria principalmente em uma amostra isolada nem sempre tem significado patológico, já que há várias causas não renais ou benignas para isso.[6]

A determinação da proteinúria é rotineiramente realizada por tiras reagentes através de métodos semiquantitativos. Estes utilizam corantes indicadores que quando ligados a albumina mudar de cor. A intensidade de cor é proporcional à concentração de albumina. A maioria dos fabricantes utilizam azul de tetrabromofenol como reagente básico para essa reação que é específica para albumina. Por apresentar alguma dificuldade de interpretação e leitura, além de não detectarem outras proteínas como a de Bence-Jones, vários laboratórios confirmam os resultados duvidosos das tiras com as reações de precipitação com ácido.[6]

Pelo método de precipitação com ácido, junta-se a urina do paciente ao ácido sulfossalicílico. A precipitação em qualquer grau indica presença de proteinúria. O método pode ser quantitativo pela utilização de padrões para manufatura de uma curva padrão. São vários os métodos baseados neste princípio para a determinação de proteinúria de 24 horas.

Microalbuminúria

Vários estudos em pacientes com IDDM têm mostrado que um pequeno aumento na excreção urinária de albumina pode predizer o desenvolvimento da nefropatia diabética elevada após um intervalo de 10 anos.[10] Portanto, a microalbuminúria tem sido encontrada como um indicador confiável do desenvolvimento subseqüente de nefropatia diabética instalada e mortalidade por doença renal e cardiovascular.

Segundo a definição atual, microalbuminúria diabética é a excreção de albumina em níveis de 20 a 200 g/minuto ou 30 a 300 mg/24 horas encontrada em pelo menos duas ou três amostras colhidas em seis meses. A determinação da microalbuminúria também tem sido estudada na hipertensão, gravidez (pré-eclâmpsia, morbidade materna, morte fetal), doença renal não-diabética, e os efeitos renais de várias drogas, hormônios ou nefrotoxinas. A microalbuminúria é dosada por radioimunoensaio, nefelometria (outros métodos baseados no princípio da precipitação) e ELISA.[5] A amostra convencional de urina de 24 horas (ainda que ofereça maior precisão), além do inconveniente ao paciente, também mostra maior variabilidade da excreção de albumina desde que vários fatores tais como dieta protéica, exercícios e postura vertical prolongada tendem a aumentar os níveis de excreção albumínica. Por esta razão, muitos clínicos preferem triar seus pacientes com uma amostra de urina de "over night" começando na hora de deitar, quando a urina é descartada e o tempo é marcado. A coleta termina no momento em que a bexiga é esvaziada na manhã seguinte, e nesta urina, tal como as outras urinas emitidas no "over night" são ensaidas para albumina. Indivíduos normais excretam menos que 15 µg/minuto durante o "over night", valores entre 20 a 200 µg/minuto ou maiores representam uma microalbuminúria anormal a qual pode ser um prenúncio do desenvolvimento de nefropatia diabética.[3]

A determinação de microalbuminúria deveria ser realizada, pelo menos anualmente, em todos os pacientes diabéticos (a falência renal ocorre aproximadamente em 30% dos diabéticos insulino-dependentes[24]). A microalbuminúria prediz a nefropatia clínica tanto nos pacientes com IDDM como com NIDDM, e a prevalência de falência renal é semelhante nos tipos de diabetes quando são comparados pacientes com mesmo tempo de diabetes estabelecida. Porém, a ocorrência de microalbuminúria em NIDDM prediz mais comumente complicações cardiovasculares que doença renal terminal. Em pacientes que progridem de microalbuminúria para macroalbuminúria os níveis de excreção albumínica aumentam de 15% a 40% ao ano. O nível de aumento está relacionado à qualidade do controle glicêmico e independe do tipo de diabetes.[10]

Vibert *et alli*[24] concluíram que a microalbuminúria elevada em pacientes com IDDM prediz fortemente o desenvolvimento da nefropatia diabética. Neste estudo prospectivo de 14 anos, com diabéticos tipo I, o risco para desenvolvimento de proteinúria clínica foi cerca de 24 vezes maior no grupo que apresentou microalbuminúria inicial entre 30 a 140 µg/minuto quando comparado com aqueles com MA inicial menor que 30 µg/minuto. Dos 55 pacientes com MA menor que 30µg/minuto, apenas 2 desenvolveram proteinúria clínica, enquanto que dos 8 com 30 a 140 µg/minuto, 7 chegaram a esta condição.

Mogensen[20], por sua vez, conclui que microalbuminúria em diabéticos tipo II prediz a proteinúria clínica e mortalidade aumentada. Em um estudo prospectivo (9 anos), ele observou o desenvolvimento de proteinúria clínica em apenas 5% dos pacientes com menos de 30 µg/minuto de microalbuminúria e em 22% dos pacientes com 30 a 140 µg/minuto. Ele ainda estabeleceu uma correlação estatisticamente significante entre a sobrevida e o nível de microalbuminúria. Apenas 22,4% dos pacientes com 30 a 140 µg/minuto microalbuminúria estava vivo após 10 anos, em comparação com os 57,3% do grupo com menos de 30 a 140 µg/minuto.

Tanto o controle irregular do diabetes, como a hipertensão estão associados à excreção aumentada de albumina na urina de pacientes com IDDM, contudo o aumento na excreção albumínica devido ao controle deficiente do diabetes é consideravelmente menor que o aumento associado a nefropatia diabética na qual a hipertensão é um achado notório (a terapia anti-hipertensiva agressiva pode retardar a falência renal[10]). Um número de outros fatores podem participar no aumento da excreção urinária de albumina em pacientes com NIDDM, dentre eles, o aumento da pressão intraglomerular pode estar envolvido.[20]

A microalbuminúria do diabetes depende do controle glicêmico e é reduzida pela correção da hiperglicemia.[10] A incidência de nefropatia parece menor entre os diabéticos com melhores níveis de controle.[24] Dietas hipoprotéicas podem diminuir os níveis de progressão da nefropatia diabética avançada, mas não tem sido mostrado o seu papel em pacientes com microalbuminúria. Se a microalbuminúria for detectada e confirmada por duas ou três dosagens, o paciente deve ser encaminhado a um centro, ou médico especializado, com experiência suficiente no gerenciamento do diabetes e tratamento da nefropatia precoce.[10]

Teste de Glicose

Valores de referência

Os valores normais para a glicose de jejum em sangue total variam de 60 a 110 mg/dL [3,3 a 6,1 mmol/L]. Os níveis plasmáticos ou séricos são 10 a 15% maiores devido a ausên-

cia dos componentes celulares do sangue, sendo que mais glicose está presente por unidade de volume. Desta forma, o nível plasmático ou sérico normal de glicose é 70 a 110 mg/dL [3,9 a 6,1 mmol/L]. A glicose plasmática ou sérica é mais freqüentemente usada na clínica, por que elas são independentes do hematócrito e mais fidedignas aos níveis de glicose nos espaços intersticiais, além de permitirem a automação. A determinação de glicose em sangue total é usada em testes rápidos de glicose em situações de emergência e também em processos de monitoramento doméstico da glicose em sangue capilar.

Amostras de sangue venoso

As amostras devem ser coletadas em tubos contendo fluoreto de sódio, o qual inibe a glicólise na amostra de sangue que causaria uma dosagem reduzida da glicose. Se tais tubos não estão disponíveis, as amostras devem ser centrifugadas até 30 minutos após a coleta e o plasma ou soro estocado a 4°C.

O método laboratorial regularmente utilizado para a dosagem da glicose plasmática são os métodos enzimáticos (tais como glicose oxidase e hexoquinase) ou métodos colorimétricos (o-toluidina).

Amostra de sangue capilar

Existem várias tiras de papel (glicose oxidase) para determinar a glicose em sangue capilar total. Todos têm sido adaptados para uso com medidores portáteis que fornecem leituras digitais. Um dos kits de tiras para teste, "Chemstrip bG" fornece um gabarito de cores para comparação visual, e estimação de glicose sangüínea. Muitos reflatômetros convencionais (Glucometer, Glucoscan e etc.), requerem exata cronometragem pelo operador assim como, uma cuidadosa remoção de todos os traços de sangue da tira antes da leitura da cor. Os equipamentos de segunda geração não possuem estas duas fontes de erro potencial. Para monitorar sua própria glicose sangüínea, o paciente precisa fazer uma incisão na polpa digital com um pequena lanceta. Seguindo a técnica adequada, o paciente pode obter bons resultados na dosagem de sua própria glicemia, a qual é indispensável para garantir um adequado gerenciamento a longo prazo do seu diabetes.[3]

Interferentes de ação fisiológica sobre a glicemia

Várias substâncias podem atuar fisiologicamente alterando os níveis de glicemia. Aqui citaremos apenas alguns exemplos, já que é vastíssima a lista desses interferentes.

Atuam aumentando fisiologicamente a glicemia, as seguintes substâncias: β-adrenérgicos, por mascarar a hipoglicemia causada por overdose de insulina; ácido aminossalícico; andrógenos; aminoácidos, por infusão intravenosa; tiazidas, diminuem a tolerância à glicose; cafeína, afeta apenas na ordem de 10 mg/dl; clonidina; corticotropina, antagonista da insulina e induz a gliconeogênese; cortisona, isoniazida, induzem a gliconeogênese; diazepóxido, inibe a liberação de insulina; dopamina, inibe a utilização periférica e aumenta a glicogenólise; epinefrina, ação característica do hormônio; etanol, hiperglicêmia transitória no desenvolvimento da intoxicação; furosemida, ação diabetogênica; várias outras substâncias e condições fisiopatológicas podem atuar aumentando a glicemia.

Atuam diminuindo fisiologicamente a glicemia as seguintes substâncias: Alopurinol, eritromicina, efeito hepatóxico; aminoácidos, por infusão intraduodenal; aspirina, em diabéticos e se for ingerida doses tóxicas; cimetidina; etanol, reduz abaixo de 50 mg/dl; inibidores da MAO, possivelmente hepatoxidade; progesterona; pentamidina; contraceptivos orais; várias outras substâncias e condições fisiopatológicas podem atuar diminuindo a glicemia.

Vale a pena lembrar que o efeito dessas substâncias e/ou condições fisiopatológicas é dose dependente e está sujeito a variações associadas a modificações farmacodinâmicas das várias situações.[7]

Hemoglobina glicosilada (Hb-glicosilada)

A determinação da Hb-glicosilada tem se tornado uma importante estratégia para avaliar a glicemia. Em algumas situações ela é mais conveniente que a GTT oral, pois requer apenas uma amostra de sangue e nenhuma preparação do paciente. Em adição, ela avalia o controle glicêmico sob condições reais de vida. Tem-se mostrado que determinações regulares de Hb-glicosilada conduzem a alterações no tratamento do diabético, a melhoria do controle metabólico como indicado por uma redução nos níveis deste analito.

A hemoglobina num indivíduo adulto é composta principalmente pela hemoglobina A (HbA). Esta contém vários componentes menores de hemoglobina (Hb) identificados como HbA_{1a}, HbA_{1b} e HbA_{1c}, que são referidas coletivamente como Hb-glicosilada, HbA_1 ou glico-Hb. A HbA_{1c} é a maior (80%) e mais bem definida das frações da HbA_1.[4]

A HbA_{1c} é produzida por uma reação de cetoamida entre a glicose e o aminoácido N-terminal de cada uma das cadeias da molécula de hemoglogina. A HbA_{1c} compreende normalmente 4 a 6% da hemoglobina total. O restante da Hb-glicosilada (2 a 4% da Hb total) contém glicose fosforilada ou frutose e está distribuída entre as frações HbA_{1a} e HbA_{1b}. A fração HbA_{1c} está normalmente aumentada em diabetes com hiperglicêmica crônica e correlaciona-se positivamente com o controle metabólico. Ensaios específicos para a HbA_{1c} são menos convenientes tecnicamente que os ensaios para HbA_1 (Hb glicosilada total) e oferecem pequena vantagem para os propósitos clínicos. Desta forma, a maioria dos laboratórios determina a soma dessas 3 glico-Hb e reportam simplesmente como HbA_{1c} ou glico-Hb.

A glicosilação da Hb é dependente da concentração de glicose sangüínea. A reação não é reversível e desta forma a meia-vida da Hb-glicosilada é determinada pela meia-vida das hemácias que normalmente circulam por 120 dias. Assim, a HbA_1 geralmente reflete o estado de glicemia por um período de 8 a 12 semanas precedentes a coleta, constitui-se portanto um método útil para o gerenciamento do controle do diabético crônico. Uma HbA_1, dentro dos limites normais 5 a 8%, refletiria um bom controle durante 2 a 3 meses precedentes da coleta: enquanto uma Hb-glicosilada em níveis de 12 a 15% refletiria um controle inadequado durante o mesmo período.[3]

Metodologia

Na determinação da Hb-glicosilada utiliza-se uma amostra de sangue total com anticoagulante (EDTA, heparina ou fluoreto), que pode ser armazenada por uma semana a 4°C e o hemolisado pode ser estocado por 4 a 7 dias a 4°C ou até 30 dias a –70°C.

Os principais métodos para Hb-glicosilada podem ser divididos em três categorias principais, baseando-se na maneira pela qual se faz a separação dos componentes de Hb-glicosilada e Hb não glicosilada. Eles podem ser separados através das diferenças na carga, reatividade química e estrutura. Descreveremos a seguir o método de cromatografia de troca iônica, o qual é mais utilizado.

A cromatografia de troca iônica utiliza para dosagem da glico-Hb colunas curtas cheias com uma resina ácida de troca catiônica ou resina de carboximetil celulose negativamente carregada. O hemolisado é aplicado na coluna e a Hb-glicosilada (HbA_{1a}, HbA_{1b} e HbA_{1c}), por ser menos carregada positivamente em pH neutro que a HbA e, por ter uma afinidade menor para resinas negativamente carregadas, elui primeiro. Um segundo tampão pode ser usado para eluir a principal

fração de Hb (HbA). A absorbância dos dois eluatos são usadas para calcular a percentagem de Hb-glicosilada total. Muitos "kits" comerciais baseados neste princípio estão disponíveis no mercado. A grande maioria separa apenas a HbA_1 da HbA, mas alguns separam a HbA_{1c} da HbA.

Em todos os métodos de troca iônica é importante para o controle do ensaio, fatores tais como: temperatura, pH, tamanho da coluna e força iônica.[4]

Condições que interferem na determinação da HbA_1 (Quadro 4)

O erro laboratorial mais comum na determinação da HbA_1 ocorre quando o método cromatográfico mede um intermediário aldimínico gerado agudamente no sangue (pré-HbA_{1c}), o qual flutua diretamente com os níveis de glicose sangüínea existentes. Este artefato pode elevar falsamente a HbA_1 por cerca de 1 a 2% durante um episódio agudo de hiperglicemia. Ele pode ser eliminado seja pela lavagem das células vermelhas com salina antes do ensaio ou por diálise do hemolisado antes da cromatografia. Outras substâncias que elevam falsamente a HbA1 são a hemoglobina carbamilada (carbamilação do amino grupo N-terminal das cadeias α e β da hemoglobina A) e a hemoglobina fetal; a primeira aparece em associação com uremia e a última circula em alguns adultos com desordens genéticas ou hematológicas. Nestes casos, uma metodologia mais intricada, tal como o método colorimétrico com ácido tiobarbitúrico ou eletroforese especial (focalização isoelétrica) é requerida para distinguir a HbA_1 dessas substâncias interferentes.

As hemoglobinopatias, tais como aquelas associadas com HbC, HbD e HbS causarão valores falsamente reduzidos, desde que seus produtos glicosilados eluem apenas parcialmente da coluna cromotográfica. Em adição, estas hemoglobinopatias estão sempre associadas com anemias hemolíticas as quais reduzem a vida-média das hemácias circulantes. Valores falsamente baixos são também encontrados em pacientes com perdas agudas ou crônicas de sangue como hemorrágicas ou flebotomias ou em pacientes diabéticos com hemocromatose; sob estas condições, a determinação da HbA_1 não é válida para gerenciamento da terapia diabética.

Os ensaios de HbA_1 sofrem pela falta de padrões de referência universal disponíveis. Contudo, em um laboratório confiável onde as aldiminas reversíveis (pré-HbA_{1c}) são rotineiramente removidas antes da cromatografia, eles são úteis ao acompanhamento efetivo da terapia diabética e particularmente importantes na avaliação da confiabilidade dos registros da monitoração doméstica, dos valores de glicose sangüínea ou urinária obtidos pelo paciente. O teste de Hb glicosilada tem sido avaliado com o propósito de triagem diagnóstica e, neste caso, enquanto o teste é geralmente muito insensível para excluir uma tolerância prejudicada à glicose, um valor acima do limite normal é geralmente um indicador específico de DM. Quando uma Hb anormal ou estado hemolítico afeta a interpretação dos resultados de HbA_1 ou quando uma faixa de tempo mais estreita é requerida, por exemplo quando é necessário checar o acerto do controle glicêmico após uma concepção em uma mulher diabética, a qual tornou-se recentemente grávida, o ensaio de frutosamina sérica oferece algumas vantagens. A frutosamina sérica geralmente reflete um estado de controle glicêmico por um período precedente de apenas duas semanas. Na maioria das circunstâncias contudo, a HbA_1 permanece sendo o método preferido para seguimento a longo prazo do controle glicêmico de pacientes diabéticos.[3]

Frutosamina

Outras proteínas séricas em adição a hemoglobina podem ligar-se a glicose por reação de glicosilação, sendo assim e já que a albumina é a proteína sérica mais abundante, a dosagem de frutosamina é basicamente representada pela albumina glicosilada. A frutosamina constitui-se então em uma forma de avaliação do controle glicêmico durante o período de três semanas que antecede a coleta da amostra, já que a meia-vida da albumina é de duas a três semanas.

A dosagem da frutosamina é mais simples que a da Hb glicosilada já que é apenas um simples método colorimétrico baseado na habilidade da frutosamina em reduzir um corante de nitroblue tetrazólio. A frutosamina também responde mais rapidamente às alterações no controle glicêmico e não é afetada pelas hemoglobinas anormais ou reciclagem acelerada da hemoglobina (anemias hemolíticas, por exemplo). Há ainda controvérsias concernentes à especificidade do método e à maneira de sua implantação.[4]

QUADRO 4
Fatores que podem interferir na determinação da HbA_1

Substâncias que causam resultados falsamente aumentados:
• Prehemoglobina A_{1c} (Intermediário Aldimínico Reversível);
• Uremia;
• Hemoglobina F.
Condições que causam resultados falsamente diminuídos:
• Hemoglobinopatias (C; D e S);
• Redução da meia vida eritrocitária;
■ Hemorragias,
■ Desordens Hemolíticas.

Critérios de diagnóstico laboratorial do *Diabetes mellitus*

Teste simples para diagnóstico pela glicose de jejum

Um valor de glicose de jejum acima de 40 mg/dL [7,8 mmol/L] em mais de uma ocasião estabelece o diagnóstico laboratorial de DM. A amostra de glicose é melhor obtida na manhã seguinte a uma noite de jejum (12 a 14 horas).[3]

Glicemia pós-prandial (2 horas p.p.)

A glicemia pós-prandial é um teste simples no qual a glicose plasmática é dosada duas horas após a refeição do paciente. Esta refeição deve conter aproximadamente 100g de carboidratos misturados a outros gêneros alimentícios. Uma glicemia maior que 200 mg/dL ([11,1 mmol/L] é indicativo de *Diabetes mellitus*, um valor menor que 140 mg/dL [7,8 mmol/L] ou usualmente 120 mg/dL [6,7 mmol/L] é considerado normal. Embora seja um teste simples, é difícil controlar o conteúdo da alimentação consumida, o tempo usado para consumir a refeição e a absorção dos alimentos. Da mesma forma que a glicemia de jejum, os valores tendem a aumentar com a idade.

Glicemia pós-desafio com glicose

Este teste é mais preciso que a glicemia pós-prandial porque ele não depende das variações intrínsecas da alimentação. Uma solução oral de glicose contendo 75 g deste açúcar é administrada e a glicemia é determinada 2 horas mais tarde. Valores maiores que 200 mg/dL [11,1 mmol/L] são indicativos de *Diabetes mellitus*.[4]

GTT oral

O GTT oral é apenas raramente indicado já que o critério para teste positivo é pobremente definido, estando baseado em grupos de pessoas jovens, ativas, não hospitalizadas, as quais não são realmente comparáveis a algumas pessoas pouco ativas, doentes ou população idosa. No passado, o GTT levou a um número falsamente elevado de diagnósticos de diabetes. Os critérios mais rígidos atualmente recomendados deveriam eliminar esta tendência para super diagnóstico e melhorar a utilidade do teste.

Preparação do teste

Visando otimizar a secreção de insulina, especialmente quando os pacientes têm tido uma dieta pobre em carboidratos, uma ingestão mínima de 150 a 200 g de carboidratos por dia deve ser instituída na dieta por 3 dias antes do teste. O paciente não deve alimentar-se após a meia-noite anterior ao dia do teste.

Procedimento do teste

Os adultos recebem 75 g de glicose em 300 ml de água, crianças recebem 1,75 g por kg de peso corporal, desde que não ultrapasse as 75 g. A glicose deve ser consumida dentro de cinco minutos. Amostras de sangue para as dosagens de glicose devem ser obtidas nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos após a ingestão de glicose.

Interpretação

O GTT oral é normal se a glicose de jejum é menor que 115 mg/dL [6,4 mmol/L] e o valor de 2 horas cai abaixo de 140 mg/dL [7,9 mmol/L], e nenhuma das amostras excede 200 mg/dL [11,1 mmol/L]. Um valor de 2 horas maior que 200 mg/dL [11,1 mmol/L], é diagnóstico de DM. O diagnóstico de tolerância à glicose prejudicada é reservado para os valores entre o limite superior normal e os valores de diagnóstico de DM. Resultados falso-positivos podem ocorrer em várias situações, como um estresse emocional severo. Diuréticos, contraceptivos orais, glicocorticóides, excesso de tiroxina, fenitoína, ácido nicotínico e algumas da drogas psicotrópicas podem também causar resultados falso-positivos.[1,3]

Níveis de insulina

Para dosar os níveis de insulina durante o GTT oral, soro ou plasma tem que ser separados dentro de 30 minutos após a coleta da amostra e congelado antes do ensaio. Os níveis de insulina imunorreativa normais variam de 5 a 20 μU/mL em estado de jejum; sobem a níveis de 50 a 130 μU/mL em uma hora e retornam para níveis menores de 30 μU/mL após 2 horas. Níveis de insulina possuem rara utilidade clínica durante o GTT.[3]

GTT Intravenoso

O GTT intravenoso é realizado por uma infusão rápida de glicose, seguida por uma série de determinações de glicose plasmática para determinar a razão de eliminação da glicose por minuto. A razão de eliminação reflete a habilidade do paciente para armazenar glicose. Talvez o seu principal uso atual seja para triagem de irmãos com risco aumentado de DM tipo I, para determinar se a destruição auto-imune das células β têm reduzido o pico precoce da resposta insulínica (entre 1 e 15 minutos da administração da glicose) para níveis abaixo do limite normal inferior a 40 μU/mL . Ele tem sido também utilizado para avaliar a tolerância à glicose em pacientes com anormalidades gastrintestinais, tais como má absorção. A interpretação clínica dos resultados deve ser bastante cuidadosa porque o teste ultrapassa a absorção normal da glicose e está associada a alterações dos hormônios gastrintestinal que são responsáveis pelo metabolismo de carboidratos. Além disso, o teste é relativamente insensível e critérios adequados para diagnóstico de diabetes não têm sido estabelecidos para vários grupos estários.[3]

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Howanitz, P.J.; Howanitz, J.H. & Henry, J.B.;** Carboidratos. *In:* **Henry, J.B.:** *Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais,* 18° Ed, Ed. Manole, São Paulo, 1995, pp. 197-214.
2. **Tietz, N.W.:** *Clinical Guide To Laboratory Tests,* 3a Ed., W.B. Saunders, USA, 1995.
3. **Karam, J.H. & Forsham, P.H.:** Pancreatic Hormones & *Diabetes mellitus. In:* **Greenspan, F. S. & Baxter, J.D.:** *Basic & Clinical Endocrinology,* 4° Ed., Lange Medical Book, USA, 1994, pp. 571-634.
4. **Hanson, N.K.:** Carbohydrates. *In:* **Anderson, S.C. & Cockayne, S.:** *Clinical Chemistry – Concepts and Aplications.* 1° Ed., W.B. Saunders, USA, 1993, pp. 139-164.
5. **Allton, C.A.:** Nonprotein Nitrogenous Compounds and Renal Function. *In:* **Anderson, S.C. & Cockayne, S.:** *Clinical Chemistry – Concepts and Aplications,* 1° Ed, W.B. Saunders, USA, 1993, pp. 377.
6. **Strasinger, S.K.:** *Uroanálise e Fluidos Biológicos,* 2ª Ed., Panamericana, São Paulo, 1991, pp. 47-69.
7. **Young, D.S.:** *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests,* 3° Ed., AACC Press, Washington, USA, 1990, pp. 3-168-3-178.
8. **Kaplan, L.A. & Gau, N.:** Hidratos de carbono y metabolitos. *In:* **Kaplan, L.A. & Pesce, A.J.:** *Química Clínica – Técnicas de Laboratório – Fisiopatologia – Métodos de Análises: Teoria, análises & correlación,* 1a Ed., Panamericana, Buenos Aires, 1986, pp. 1216-1230.
9. **Mayes, P.A.:** Metabolismo dos Carboidratos. *In:* **Harper, H. A.: Rodwell, V.W. & Mayes, P.A.:** *Manual de Química Fisiológica,* 5ª Ed., Atheneu, São Paulo, 1982, pp. 308-330.
10. **Jeruns, G.; Cooper, M.; Gilbert, R.; O'Brien, R. & Taft, J.:** Microalbuminuria in Diabetes. *Med J. Aust. 161*: 265-268, 1994.
11. **Garg, A.:** Management of dyslipidemia in IDDM patients. *Diabetes Care 17*: 224-234, 1994.
12. **Schwartz, C.J.; Valente, A.J. & Spragve, E.A.:** A modern view of atherogenesis. *Am. j. Cardiol 71*: 9B-14B, 1993.
13. **Taskinen, M.R.:** Quantitative and qualitative lipoprotein abnormalities in *Diabetes mellitus. Diabetes 41* (Suppl. 2): 12-17, 1992.
14. **The DCCT Research Group:** Lipid and lipoprotein levels in patients with IDDM: Diabetes Control and Complications Trial experience. *Diabetes Care* 15 *(7)*: 886-894, 1992.
15. **James, R.W. & Pometta, D.:** Differences in lipoprotein subfraction composition distribuition between type I diabetic men and control subjects. *Diabetes 39*: 1158-64, 1990.
16. **Georgopoulos, A. & Rosengard, A.M.:** Abnormalities in the metabolism of post-prandial and fasting triglyceride-rich lipoproteins subfractions in normal and insulin-dependent diabetic subjects: effects of sex. *Metabolism 38*: 781-89, 1989.
17. **Winocour, P.H.; Durrington, P.N.; Ishola, M.; Hillier, V.F. & Anderson, D.C.:** The prevalence of hyperlipidemia and related clinical features in insulin-dependent *Diabetes mellitus. Q.J. Med. 70*: 265-76, 1989.
18. **Winocour, P.H.; Durrinington, P.H.; Ishola, M.; Anderson, D.C. & Cohen, H.:** Influence of proteinuria on vascular disease, blood presure, and lipoproteins in insulin-dependent *Diabetes mellitus. Br. Med. J. 294*: 1648-51, 1987.
19. **Strobl, W.; Widhalm, K.; Schober, E.; Frisch, H.; Poliak, A. & Westphal, G.:** Apoliproproteins and lipoproteins in children with type I diabetes: Relation to glycosylated serum protein and HbA_1. *Acta. Paediatr. Scand. 74*: 966-71, 1985.
20. **Mogensen, C.E.:** Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes. *N. Engl. J. Med. 310*: 356-60, 1984.
21. **Mogensen, C.E. & Christensen, C.K.:** Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N. Engl. J. Med. 311;* 89-93, 1984.
22. **Walden, C.E.; Knopp, R.H.; Wahl, P.W.; Beach, K.W. & Strandness, E., Jr.:** Sex differences in the effect of *Diabetes mellitus* on lipoprotein triglyceride and cholesterol concentrations. *N. Engl. J. Med. 311*: 953-959, 1984.
23. **Vannini, P.; Ciavarella, A.; Flammini, A.; Bargossi, A.M., Forlani, G.; Borgnio, L.C. & Orsoni, G.:** Lipid abnormalities in insulin-dependent diabetic patients with albuminuria. *Diabetes Care 7:* 151-154, 1984.
24. **Viberti, G.C.; Jarret, R.J.; Mahmud, U.; Hill, R.D.; Argyropulos, A. & Kenn, H.:** Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropath in IDDM. *Lancet 1*:1430-1432, 1982.
25. **Sosenko, J.M., Breslow, J.L., Miettinen, O. S. & Gabbay, K.H.:** Hyperglycemia and plasma lipid levels: a prospective study of young insulin-dependent diabetic patients. *N. Engl. J.Med. 302*: 650-54, 1980.

Comportamento do leucograma em crianças com pneumonia*

The leukocytes count conduct in children with pneumonia

Geraldo Barroso Cavalcanti Júnior[1], Maria Cristina Pignataro Emerenciano de Araújo[2] & Teresa Neuma de Souza Brito[3]

RESUMO – Foram realizados leucogramas em 90 crianças com pneumonia, objetivando avaliar as alterações dos leucócitos sangüíneos nesta doença. As amostras de sangue periférico foram examinadas por métodos hematológicos de rotina no momento da internação antes de qualquer intervenção terapêutica. Os resultados observados revelaram uma tendência à leucocitose com neutrofilia na maioria dos casos, notadamente na faixa compreendida entre 10.000 a 20.000 leucócitos/mm^3. As alterações típicas de leucograma infeccioso também foram observadas, como o aumento do número de neutrófilos imaturos circulantes, valor da relação entre neutrófilos imaturos/neutrófilos total igual ou superior à 0,100 em 52,2% dos casos, ausência ou diminuição do número de eosinófilos na maioria dos resultados, além da presença de alterações estruturais adquiridas nos leucócitos como a presença de granulações tóxicas, corpúsculos de Döhle, vacuolização nos neutrófilos e atipia linfocitária.
PALAVRAS-CHAVE – Pneumonia, leucócitos, granulócitos neutrófilos.

SUMMARY – Leukocytes count was realized in 90 childrens with pneumonia aiming at the evaluation bloods leukocytes alteration in this disease. The bloods sample has been examined by the regular hematologic method before the treatment. The results showed a tendency to leukocytose with neutrophilie in the majority of cases to notable values between 10.000/mm^3 and 20.000/mm^3. Another typical alterations of infections were observed as the increase of the imnature neutrophils number in the blood, the ratio values of immature neutrophils total neutrophil equal or superior at 0,100 in 52.2%, absence or decrease of eosinophils and the presence of structural alterations in the leukocytes as the toxic granulation and Döhle corpuscules, in neutrophils, atypical limphocytes and neutrophil within vacuoles.
KEY WORDS – Pneumonia, leukocytes, granulocite neutrophil.

INTRODUÇÃO

Leucograma é a parte do hemograma que avalia a série leucocitária. Ele evidencia alterações quantitativas e/ou morfológicas, porém não evidencia alterações funcionais dos leucócitos, salvo quando acompanhados de morfologia alterada.[5]

Embora este exame seja um auxiliar no diagnóstico das infecções, suas alterações não são específicas nem constantes. A leucocitose e o desvio à esquerda são dados sugestivos de uma infecção bacteriana em curso associados ou não a alterações estruturais nos leucócitos como a presença de granulações tóxicas, corpúsculos de Döhle e a presença de neutrófilos vacuolados são dados que também devem ser valorizados em um hemograma de indivíduos com infecções.[1,5,11,12]

As pneumonias como patologia de origem infecciosa não fogem à regra, parâmetros hematológicos comuns a outros processos infecciosos também são encontrados nesta doença com freqüência elevada.[8,9,11,12]

As pneumonias podem ser de origem bacteriana ou viral, sendo as primeiras mais freqüentes em nosso meio. As pneumonias de etiologia viral são diagnosticadas por procedimentos sorológicos ou técnicas de biologia molecular, exames estes difíceis em grande parte dos laboratórios de análises clínicas, assumindo desta forma o leucograma uma importância fundamental no diagnóstico e acompanhamento desta doença.

As pneumonias de origem bacteriana em geral cursam com leucocitose e neutrofilia. O aumento do número de bastões e a presença de alterações estruturais dos neutrófilos como a presença de granulações tóxicas e corpúsculos de Döhle também são achados comumente encontrados neste tipo de pneumonia.[11,12]

As pneumonias de etiologia viral, embora estejam relacionadas com leucopenia, as alterações observadas no leucograma são mais inconstantes, podendo também observar-se casos acompanhados de leucocitose e outros com leucometria dentro dos limites de normalidade. Na contagem diferencial entretanto é comum observar-se a presença de linfocitose relativa ou absoluta, podendo inclusive apresentar linfócitos atípicos. Por outro lado, a presença de neutrófilos imaturos nestas pneumonias assim como em outras infecções virais deve-se sempre alertar para uma eventual complicação, como uma infecção bacteriana superjuntada.[8]

Recebido em 27/08/96
* Trabalho realizado no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Pediatria da Universidade Federal do Rio Grande do Norte e no Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
[1]Farmacêutico-Bioquímico do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Pediatria da UFRN.
[2]Professora Adjunto IV do Departamento de Pediatria da UFRN.
[3]Professora–Adjunta IV do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da UFRN.

Baseados nestes dados foram realizados leucogramas em crianças com pneumonia com o objetivo de estudar o perfil deste exame nas pneumonias em pacientes pediátricos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 90 crianças de ambos os sexos e com idade variando entre 1 a 13 anos, oriundas do ambulatório e enfermarias do Hospital de Pediatria da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), com suspeita clínica de pneumonia. Estas crianças foram submetidas a um leucograma durante o ato de internação com o intuito de esclarecer ou complementar o diagnóstico clínico de pneumonia que também incluía o raio X do tórax.

O sangue venoso foi coletado e acondicionado em frascos do tipo vacuteiner contendo o anticoagulante etileno-diamino-tetra-acético di-sódio (EDTA-Na_2), na proporção de 1 mg de anticoagulante para cada 1ml de sangue. Para cada amostra foram confeccionados distensões sangüíneas em lâminas de vidro sem anticoagulante que posteriormente foram corados pelo Leishman.

A contagem global dos leucócitos foi realizada empregando a técnica de rotina em câmara de Neubauer e a diferencial foi realizada em distensões sangüíneas coradas pelo Leishman onde foram contados 100 leucócitos em microscópio com objetiva de imersão, seguida pela análise morfológica dos leucócitos.[3]

Os parâmetros estudados foram a leucometria total, a contagem diferencial dos leucócitos e a pesquisa de alterações morfológicas dos leucócitos nas distensões sangüíneas. Efetuou-se também estudos sobre dois índices comumente utilizados no diagnóstico de infecções bacterianas: I) a relação entre o número de bastões e o número de segmentados (NB/NS), e II) a relação entre o número de neutrófilos imaturos e o número de neutrófilos totais (NI/NT).[4,10,12]

Aceitamos como normais os valores hematológicos descritos por Carraza F. R. para crianças com idade variando de 1 a 13 anos de idade.[2]

RESULTADOS

A incidência de pneumonia nas crianças do sexo masculino foi de 51 casos (56,7%), sendo 39 casos (43,3%) do sexo feminino. A faixa etária mais acometida pela doença foi aquela compreendida entre 1 a 11 meses com uma incidência de 42 casos (46,7%), seguidas pelas faixas etárias compreendidas entre 1 a 5 anos de idade com 34 casos (37,8%), 9 casos (10%) com idade compreendida entre 6 e 10 anos e finalmente, 5 casos (5,5%) tinham idade superior a 10 anos.

Os principais achados radiológicos relacionados a pneumonia foram: I) a presença de áreas de infiltrado em 47 casos (52,2%), II) áreas de condensação em 25 casos (27,8%), III) derrame pleural em 10 casos (11,1%) e, IV) pneumatoceles em 8 casos (8,9%).

A Figura 1 mostra a variação de leucometria no grupo estudado, onde foram observadas variações de menos de 5.000/mm^3 em 2 casos (2,2%) até valores superiores a 35.000/mm^3 em 5 casos (5,6%). Entretanto, neste estudo, observou-se um predomínio de casos cuja leucometria variou de 10.000 a 20.000/mm^3 em 52 casos (57,8%), seguido pelos casos cuja contagem de leucócitos no sangue periférico variou de 5.000 a 10.000/mm^3 em 21 casos (23,3%) e 10 casos (11,1%) cuja leucometria variou de mais que 20.000 até 35.000/mm^3.

Já na Figura 2, encontram-se resumidas as variações do número de neutrófilos total no sangue periférico. Do total das 90 crianças examinadas, 6 casos (6,7%) apresentaram a contagem destes neutrófilos inferior à 3.000/mm^3, 7 casos (7,8%) tiveram o número absoluto de neutrófilos variando de 3.000 a 5.000/mm^3. Em 35 casos (51,1%) esta contagem variou entre 5.000/mm^3 a 10.000/mm^3, 30 casos tiveram uma variação do número de neutrófilos entre 10.000/mm^3 a 20.000/mm^3 e, finalmente, em 11 casos a contagem de neutrófilos total foi superior a 20.000/mm^3.

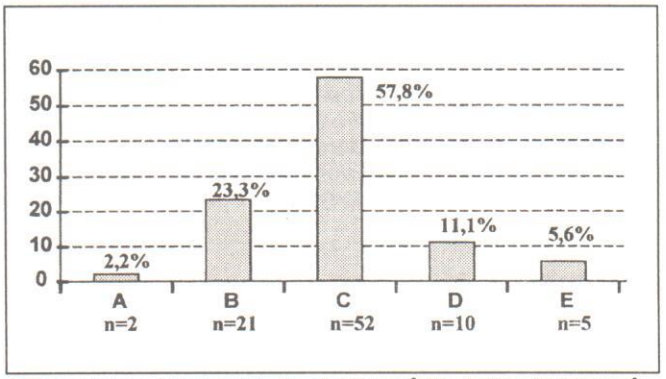
As Tabelas I e II mostram valores referentes a relação NI/NT e NB/NS respectivamente. A relação NI/NT igual ou superior a 0,100 foi constatada em 52,2% dos casos; valores desta relação oscilando entre menos que 0,100 a 0,05 foram observadas em 25,6, seguidos por valores inferiores a 0,05 em 22,2% dos casos.

Na relação NB/NS, foram observados valores iguais ou superiores a 0,476 em 59 casos (65,6%). Valores variando entre menos de 0,476 a 0,400 foram observados em 20 casos (22,2%) e inferiores que 0,400 em 11 casos (12,2%).

As alterações estruturais dos neutrófilos estão relacionadas na Tabela III, onde observou-se um predomínio de neutrófilos com granulações tóxicas em 46,2% dos casos, seguido pela presença de corpúsculos de Döhle nos neutrófilos em 23,1% dos casos. Outras alterações estruturais dos leucócitos como a presença de linfócitos atípicos, vacuolização citoplasmática nos neutrófilos também foram observadas embora em uma incidência menor. Do total de crianças estudadas, 20 casos (15,4%) não apresentavam nenhum tipo de alteração estrutural adquirida nos leucócitos.

FIGURA 1

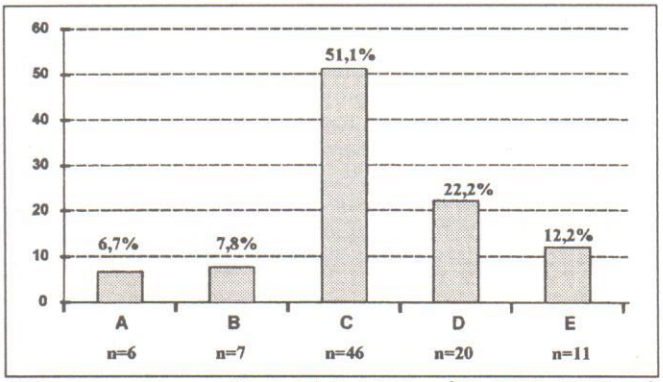
Variação da leucometria em 90 crianças com pneumonia



OBS.: contagem de leucócitos. A) < 5.000/mm^3; B) > 5.000 a 10.000/mm^3; C) > 10.000 a 20.000/mm^3; D) > 20.000 a 35.000/mm^3 e E) > 35.000/mm^3.

FIGURA 2

Variação da contagem de neutrófilos total em 90 crianças com pneumonia



OBS.: contagem de neutrófilos total. A)<3.000/mm^3; B)>3.000 a 5.000/mm^3; C) > 5.000 a 10.000/mm^3; D) 10.000 a 20.000/mm^3; E) > 20.000/mm^3.

TABELA I
Valores da relação do número de neutrófilos imaturos/neutrófilos total (NI/NT) em 90 crianças com pneumonia

Relação NI/NT	Nº (%)
Maior ou igual que 0,100	65 (52,2)
< 0,100 a 0,05	23 (25,6)
Menor que 0,05	2 (22,2)
Total	90 (100,0)

OBS.: Neutrófilos Imaturos (NI): neutrófilos em bastão, neutrófilos metamielócitos e neutrófilos mielócitos

TABELA II
Valores da relação do número de neutrófilos em bastão e o número de neutrófilos segmentados (NB/NS) em 90 crianças com pneumonia

Relação NB/NS	Nº (%)
Maior ou igual a 0,476	59 (65,6)
< 0,476 a 0,400	20 (22,2)
Menor que 0,400	11 (12,2)

TABELA III
Presença de alterações estruturais dos leucócitos em 90 crianças com pneumonia

Alterações Estruturais	Nº (%)
Neutrófilos com Granulações Tóxicas	60 (46,2)
Neutrófilos com Corpúsculos de Döhle	30 (23,1)
Linfócitos Atípicos	15 (10,7)
Vacuolização Citoplasmática nos Neutrófilos	05 (3,8)
Sem Alterações Estruturais	20 (15,4)
Total	130 (100,0)

A Tabela IV relaciona o número de eosinófilos em valores relativos, mostrando a predominância da ausência nos mesmos em 61 casos (67,8%), seguido por valores compreendidos entre 1 a 4% em 22 casos (24,4%). Valores relativos da contagem do número de eosinófilos compreendidos entre 5-10% foram observados em 6 casos (6,7%) ao passo que apenas um caso (1,1%) mostrou uma contagem de eosinófilos superior a 10%.

Na Tabela V estão relacionados valores relativos à fórmula leucocitária dos pacientes estudados os quais constituem a contagem global dos leucócitos e valores relativos à contagem específica dos leucócitos com valores máximo, mínimo e mediana dos valores obtidos.

DISCUSSÃO

O leucograma não necessariamente mostra alterações características de infecção, seja qual for a etiologia do processo, as alterações observadas são sempre inespecíficas.[12]

O desvio à esquerda e o aumento do número de leucócitos sugerem infecções bacterianas em curso, mas estas alterações podem estar ausentes caso o hemograma seja realizado na

TABELA IV
Variação do número de eosinófilos em valores relativos nas 90 crianças com pneumonia

Eosinófilos (%)	Nº (%)
Zero	61 (67,8)
1 a 4	22 (24,8)
5 a 10	6 (6,7)
> 10	1 (1,1)
Total	90 (100)

TABELA V
Variação da fórmula leucocitária em 90 crianças com pneumonia

Leucometria (x $10^3/mm^3$)	Min-Max (Me) 4,3-46,8 (20,0)
Neutrófilo Segmentado	10-80 (51,2)%
Neutrófilo em Bastão	01-30 (10,0)%
Neutrófilo Metamielócito	00-10 (5,00)%
Nuetrófilo Mielócito	00-06 (3,00)%
Eosinófilo	00-15 (2,00)%
Basófilo	00-01 (1,00)%
Linfócito	08-78 (32,0)%
Monócito	01-12 (6,00)%

OBS.: Min (valor mínimo); Max (valor máximo); Me (mediana).

fase aguda da doença ou se esta é relativamente localizada, como nas otites e amigdalites.[9,12]

Conforme relatos da literatura, um leucograma com leucocitose acompanhado de neutrofilia sugere uma infecção bacteriana. Entretanto, um leucograma com este perfil pode ocorrer em função de outras causas não relacionadas à infecções bacterianas como por exemplo: I) em processos inflamatórios como nas colagenoses, reações de hipersensibilidade e febre reumática; II) em intoxicações por produtos químicos ou veneno de insetos; III) após hemorragia aguda; IV) em doenças mieloproliferativas como na leucemia mielóide crônica; V) após destruição tissular como em queimaduras e em estado pós-operatório e finalmente, VI) em processos fisiológicos como na gravidez e em recém-nascidos.[2-6]

No sangue periférico em condições normais os neutrófilos se distribuem em 2 compartimentos cujos elementos permutam constantemente, mantendo-se em equilíbrio dinâmico e que são o compartimento circulante onde os neutrófilos circulam livremente e o compartimento marginal onde os neutrófilos permanecem juntos ao endotélio dos vasos sangüíneos.[11]

Na vigência de um estímulo, como por exemplo nas peneumonias bacterianas, a medula óssea que contém uma grande reserva de neutrófilos é prontamente mobilizada, ocorrendo inicialmente uma liberação das formas mais maduras do compartimento de reserva. À medida que esta solicitação se torna mais intensa, ocorre o aumento da neutrofilia com presença de formas mielóides mais jovens, inicialmente revelada pelo aumento do número de bastões e de metamielócitos.

Com o aumento do consumo, o tempo de maturação pode ser encurtado, o número de divisões mitóticas reduzido, levando as células a serem liberadas da medula óssea mais rapidamente, resultando muitas vezes na presença de mielócitos e pró-mielócitos no sangue periférico. Tal fato denomina-se desvio à esquerda e nos processos benignos como em infecções ocorre sempre seguindo um escalonamento com as formas mais maduras sempre em número superior as mais jovens.[2,11]

Nestes casos, a relação entre o número de neutrófilos imaturos/neutrófilos total (NI/NT) acima de 0,100 no sangue periférico assim como a relação neutrófilos em bastão/neutrófilos segmentados (NB/NS) igual ou superior a 0,476 são índices comumente utilizados no diagnóstico de infecções bacterianas.[10,12]

Outro bom indicador dos processos infecciosos é a ausência ou diminuição dos eosinófilos no sangue periférico destes indivíduos, fato este obeservado no acme dos processos infecciosos bacterianos.[1,4,10,12]

A presença de alterações estruturais nos neutrófilos como a presença de granulações tóxicas, corpúsculos de Döhle e microvacuolização citoplasmática são achados que também devem ser valorizados em pacientes com infecção bacteriana grave. Quando mais uma destas alterações se mostram presentes em um mesmo indivíduo, a confirmação de que se trata de uma infecção bacteriana é quase certa.[1,4,8]

As granulações tóxicas consistem na presença de grânulos de coloração violeta nos neutrófilos maduros. Estes grânulos provavelmente representam granulações azurófilas modificadas, estando freqüentemente presentes em infecções graves e em processos inflamatórios.[2]

Os Corpúsculos de Döhle representam inclusões basofílicas remanescentes da condensação do ácido ribonucleico na periferia do citoplasma dos neutrófilos. A presença destas alterações é um sinal fidedigno de infecções graves ou sistêmicas como nas septicemias, pneumonias e na erisipela.[4,6]

A presença de vacuolização citoplasmática nos neutrófilos está geralmente relacionada com a existência de focos purulentos. Segundo alguns autores, estes vacúolos parecem constituir indícios de fagocitose ativa ou de degeneração neutrofílica, estando portanto a sua presença relacionada à processos infecciosos graves.[6]

Neste trabalho, analisando a Figura 1 observamos que a leucometria manteve-se elevada na maioria dos casos, havendo predomínio de casos cuja contagem oscilava entre 10.000 a 20.000/mm^3 em sua maioria. A contagem de neutrófilos total, vista resumidamente na Figura 2 também mostrou-se elevada na maioria dos casos estudados, demonstrando desta forma haver uma correlação direta da leucometria com a contagem de neutrófilos total no sangue periférico.

Correlacionando a relação NI/NT com a doença em curso, observa-se uma relação superior a 0,100 na maioria dos casos assim como a relação NB/NS que apresentou valores superiores a 0,476 também na maioria dos casos. Estes achados se correlacionam com os achados da literatura que postulam estes 2 índices como bons indicadores de um processo infeccioso bacteriano.[10,12]

Outros dados comumente presentes nos processos infecciosos agudos também foram observados neste estudo, como a ausência de eosinófilos circulantes na maioria dos casos estudados, assim como a presença de alterações estruturais adquiridas nos leucócitos, dentre as quais a presença de granulações tóxicas e corpúsculos de Döhle nos neutrófilos que foram observados na maioria dos casos, conforme podemos observar nas Tabelas IV e V.

Tal fato reforça a importância da contagem diferencial criteriosa dos leucócitos, seguida por uma análise cuidadosa das distensões sangüíneas provenientes de pacientes com suspeita de pneumonia ou de outro processo infeccioso grave.

CONCLUSÕES

Com base nos dados analisados, concluímos que:

1- A leucocitose acompanhada de neutrofilia mostrou-se um bom indicador no diagnóstico das pneumonias.

2- O aumento do número de neutrófilos em bastão e de outras formas mielóides jovens assim como a presença de alterações estruturais dos leucócitos merecem maior atenção na interpretação de um leucograma de indivíduos com pneumonia.

3- A ausência dos eosinófilos nos esfregaços sangüíneos mostrou-se um dado importante na maioria dos casos estudados.

4- As relações NI/NT maior ou igual que 0,100 e NB/NS igual ou superior a 0,476 mostraram-se bons indicadores no hemograma de crianças com pneumonia.

5- Desta forma, concluímos que o leucograma é um recurso importante à medida que fornece informações sobre presença de um processo infeccioso em curso, especialmente no que se refere a uma observação cuidadosa dos leucócitos em distensões sangüíneas coradas tanto no que se refere a uma análise quantitativa (fórmula leucocitária), assim como possíveis alterações estruturais dos leucócitos, relacionados a processos infecciosos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Brandão, C. A. *et al.*** - Comportamento do Hemograma em Pacientes com Septicemia. *Rev. Bras. de Anal. Clin. 22* (11): 31-4, 1990.
2. **Carraza, F.** *in: Laboratório em Pediatria (Interpretação Clínica),*. 1ªed., São Paulo - SP, cap. 09, pag. 310; Editora Sarvier, 1989.
3. **Carvalho, W. F.** *in: Técnicas Médicas de Hematologia e Imunologia,* 3ª ed., São Paulo - SP, cap. 09, pag. 54. Editora Cultura Médica, 1983.
4. **Christensen, R. D. *et al.*** - The leukocyte left shift in clinical and experimental neonatal sepsis. *J. Pediat. 98* (1): 101-104, 1994.
5. **Failace, R. R.** *in: Hemograma-manual de Interpretação,* 2ª ed., Porto Alegre-RS, pag. 93-135, Editora Artes Médicas, 1992.
6. **Faraj, M.; Meneghin M. M. & Resende de Castro N. S.** - Aspectos básicos da contribuição da hematoscopia para o diagnóstico em medicina interna. *JBM. 67* (1): 197-206, 1994.
7. **Gorina, A. B.** *in: A Clínica e o Laboratório.* 12ª ed., São Paulo - SP, pag. 300. Editora Guanabara Koogan, 1981.
8. **Laranjeiras, M. S. & Aguiar R. M. P.** - Pneumonias virais na infância. *Pediatria Moderna, 18* (3): 123-138, 1983.
9. **Marque, A. N.** - Viroses respiratórias na infância - 2ª parte (Final). *Jornal de Pediatria, 53* (3): 317-325, 1986.
10. **Shouttlewoth, B. *et al.*** - Leukocyte count in children pneumonia. *American Journal of Disease of Children. 122:* 393-396, 1971.
11. **Steigbigel, T. *et al.*** - The nitroblue tetrazolium reduction test versus conventional hematology in the diagnosis of bacterial infections. *N. Eng. J. Med. 290:* 235-238, 1974.
12. **Zaganelli, L.** - Alterações hematológicas em pneumonias da infância. *Jornal de Pediatria. 55* (5-6): 386-388, 193.

Ocorrência de *Listeria spp* em crianças da cidade de Goiânia-Goiás

Occurrency of *Listeria spp* in childrens from Goiânia city, Goiás state

Idalina Thiomi I. Nojimoto[1], Sandra Regina de Souza[2]& Leda Maria Valadão[3]

RESUMO – Foram investigados *Listeria spp* em fezes diarréicas ou não em crianças menores de 5 anos na cidade de Goiânia. As fezes foram coletadas na creche Obra do Berço e no Centro Materno Infantil. Todas as amostras sofreram o processo de enriquecimento a frio (4°C) por 7 dias, 14 dias e 4 semanas e subcultivadas em Ágar Palcam modificado, meio seletivo e diferencial, contendo ácido nalidíxico, acriflavina, polimixina, esculina e citrato de ferro III amoniacal. A identificação primária foi baseada nas características coloniais e morfotintoriais e na observação de motilidade, sendo a seguir confirmada através de provas bioquímicas e sorológicas. Foram isolados de fezes diarréicas 3,1% de *Listeria grayi*, 2,8% de *Listeria murrayi*, e 2,8% de *Listeria innocua*. E de fezes não diarréicas, 14,11% de *Listeria innocua*, 8,88% de *Listeria murrayi*, 3,52% de *Listeria grayi*, 1,7% de *Listeria monocytogenes*. Os resultados obtidos na determinação da sensibilidade das amostras diante dos antibióticos, demonstraram que as *Listeria spp* tiveram alta taxa de sensibilidade ao cloranfenicol (85%), gentamicina (75%), e estreptomicina (75%). As cepas foram particularmente resistentes à ciprofloxacina (25%), à cefalotina (45%) e à penicilina (50%).
PALAVRAS-CHAVE – *Listeria spp;* fezes diarréicas; antibióticos.

SUMMARY– The occurence of Listeria spp *was investigated in faecal specimens of childrens under five years with enteric disturbance in Goiânia city. All the samples for enrichment, tryptose phosphate broth was used and incubated at 4°C for 7 days, 14 days and 4 weeks. Subsequent at the cold-enrichment, the cultures were streaked on plates of seletive media, Palcam modificated agar with: nalidix acid, acriflavin, polymyxin, aesculin and ferric ammonium citrate. Identification of suspected colonies was read under microscope using the oblique light technique, Gram-staining and them confirmated biochemically and serotyped. The* Listeria *isolated from the faeces diarrhoea were:* Listeria gray *(3.1%),* Listeria murrayi *2.8%,* Listeria innocua *2.8%, and in the faeces without diarrhoea were:* Listeria innocua *(14.11%),* Listeria murray *(8,88%),* Listeria grayi *(3.52%) and* Listeria monocytogenes *(1.7%).* Listeria *strains were sensitive to chloramphenicol (85%), gentamicin (75%), estreptomicin (75%). This studies documented the effectiveness to Cephalotin (45%) and penicillin (50%) on* Listeria spp.
KEY WORDS – Listeria spp*; faecal diarrhoea; antibiotics.*

INTRODUÇÃO

Listeria monocytogenes é o agente causador de listeriose, reconhecido como um grande problema de Saúde Pública e foi observado em animais há cerca de 60 anos. Este microrganismo é de ocorrência cosmopolita, psicrofílica, com largo potencial patogênico. (Yu *et al.* 1982[1], Hardie e Roberts 1984[2], McLauchlin 1987[3], Schuchat *et al.* 1991[4], Arber *et al.*1991[5]). É um bacilo Gram-positivo freqüentemente encontrado no ambiente, transmitido através de alimentos, podendo causar diarréia, aborto e meningoencefalite em grande variedade de animais e nos seres humanos. Causa infecções humanas principalmente durante o período perinatal e em pacientes imunocomprometidos. O modo de aquisição de *Listeria monocytogenes* mantém-se obscuro, mas acredita-se que o trato digestivo possa ser a porta de entrada do organismo (Lamonte e Postlethwaiter 1986[6], Campbell 1990[7],McGowan *et al.* 1991[8]). Foi demonstrado por vários autores estrangeiros que a porcentagem de portadores fecais de *Listeria spp* varia de 0,6% a 16% na população (Variend *et al.* 1975[9], Ralowich *et al.*, 1984.[10] Estudos longitudinais têm mostrado que acima de 70% da população pode carrear o micorganismo por curto período de tempo (Kampelmacher *et al.* 1972).[9]

OBJETIVOS

Fornecer subsídios para o conhecimento da epidemiologia da Listeriose, em Goiânia.

Verificar a prevalência de *Listeria spp*, em fezes diarréicas, desenvolvendo uma metodologia simplificada e prática para o cultivo deste microrganismo.

Determinar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos das amostras de *Listeria* isoladas, através de técnica de Kirby Bauer.

MATERIAL E MÉTODO

Grupo de estudo:

Foram analisadas 233 amostras de fezes de crianças menores de 5 anos, de agosto de 1994 a 1995. As amostras foram coletadas no Centro Materno Infantil, Laboratório Rômulo Rocha e Hospital das Clínicas da UFG.

126 amostras de fezes diarréicas.

107 amostras de fezes não diarréicas.

Análise bacteriológica:

Os espécimes foram inoculados em 10 ml de Caldo Tripticaseína Soja Tamponado (CTST) e incubados a 4°C durante 7, 14 e 28 dias. Após esta fase de enriquecimento, as amostras foram semeadas no Ágar Palcam Modificado(APM). As placas foram incubadas por 48 horas a 35°C. As colônias isoladas que revelaram motilidade e as características morfo-tintoriais típicas (cocobacilos Gram-positivos) foram bioquimicamente analisadas (esquema 1). As amostras confirmadas sorologicamente de acordo com a metodologia de Donker-Voet.

Recebido em 11/11/96
[1] Professora do Departamento de Microbiologia do IPTSP/UFG
[2] Bolsista de Iniciação Científica/CNPq
[3].Biomédica do Departamento de Microbiologia do IPTSP/UFG

TABELA I
Espécies de *Listeria spp* isoladas em meio ágar palcam modificado

Espécies	Nº de isolados de *Listeria spp* de fezes		
	Diarréicas (126)	Não Diarréicas (107)	Total (233)
L. grayi	3,1%[4]	3,52%[4]	3,43%[8]
L.murrayi	2,8%[3]	8,88%[9]	5,15%[12]
L. innocua	2,8%[3]	14,11%[15]	7,72%[18]
L.monocytogenes		1,76%[2]	0,85%[2]
TOTAL	8,7%[10]	28,27%[30]	17,15%[40]

TABELA II
Porcentagem de sensibilidade de *Listeria spp* aos antibióticos: (Kirby-Bauer)

Antibióticos (conc.)	% de sensibilidade
cloranfenicol (30 μg)	85%
gentamicina (10μg)	75%
estreptomicina (10μg)	75%
tetraciclina (30μg)	70%
penicilina (10UI)	50%
cefalotina (30μg)	45%
ciprofloxacina (5 μg)	25%

Sensibilidade aos antibióticos:

A sensibilidade aos antibióticos foi realizada através da técnica de difusão em ágar (Kirby-Bauer). As cepas isoladas foram testadas com os seguintes antibióticos:

- *Gentamicina (10 μg)*
- *Cloranfenicol 30 μg)*
- *Penicilina (10 μg)*
- *Ciprofloxacina (5 μg)*
- *Cefalotina (30 μg)*
- *Estreptomicina (10 μg)*
- *Tetraciclina (30 μg)*

RESULTADOS

O estudo bacteriológico nos permitiu isolar 40 cepas de *Listeria spp* durante o período em que foram examinadas 233 amostras de fezes, sendo 126 amostras diarréicas e 107 não-diarréicas.

Foram isoladas 10 cepas de *Listeria spp* das amostras de fezes diarréicas. Das quais, 3,1%[4] eram *L. grayi*; 2,8% [3] eram *L. murrayi* e 2,8%[3] eram *L. innocua*. Das amostras não-diarréicas, foram isoladas 30 cepas de *Listeria spp*, sendo 1,76%[2] de *L. monocytogenes*, 3,52%[4] de *L. grayi*, 8,88%[9] de *L. murrayi* e 14,11%[15] de *L. innocua* (Tabela I).

O perfil de sensibilidade aos antibióticos mostrou uma elevada sensibilidade de cepas ao cloranfenicol e à gentamicina, porém, foi observada a resistência à ciprofloxacina, cefalotina e penicilina (Tabela II).

DISCUSSÃO

Com o advento do desenvolvimento de recursos de meios seletivos para o isolamento de *Listeria*, tem sido demonstrado grande êxito na identificação dessa bactéria, a partir de coproculturas. Com relação à prevalência de *Listeria spp* em fezes humanas oriundas de indivíduos sadios ou com distúrbios entéricos, vai de encontro com os achados das investigações de Hofer, E. (1974) e Bojsen-Moller (1966), que encontraram uma freqüência de até 20,1%. Em contraposição o trabalho de Kampelmacher, E.H. & Van Noorle Jansen (1969), demonstrou 69,2% de positividade 52 fezes analisadas. Os nossos dados concordam com os resultados dos autores Hofer, E. (1974) e Bojsen-Moller (1966), onde tivemos uma prevalência de 8,8% de *Listeria spp* em 126 fezes de crianças com diarréia e 28,27% em 107 fezes de crianças hígidas.

Os estudos de sensibilidade aos antibióticos constataram que o cloranfenicol e a gentamicina, são os antibióticos de escolha para o tratamento de Listeriose. A escolha da gentamicina vai de encontro aos resultados de Molering *et al.*[10] (1972), Wiggins *et al.*[11] (1978), Poulsen *et al.*[13] (1988), Espaze & Reynaud (1988), Hofer & Oliveira (1988). As amostras de *Listeria spp* isoladas foram bastante resistentes à ciprofloxacina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Yu, V.L.; Miller, W.P.; Wing, W.J.; Rormano, J.M.; Ruiz, C.A.& Bruns, F.J.** Disseminated listerioisis presenting as acut hepatitis. Case reports and review of hepatic involvement in listeriosis. *Am. J. Med.,76:* 773 777, 1982.
2. **Hardie, R.& Roberts, W.** Adult listeriosis presenting as acute hepatitis. *J.Infect., 8:* 256-258, 1984.
3. **McLauchlin, J.** *Listeria monocytogenes*, recent advances in the taxonomy and epidemiology of Listeriosis in human. *J. App. Bacteriol., 63:* 1-11, 1987.
4. **Schuchat, A.; Lizano, C. Broome, C.V.; Swaminathan, B.C. & Winn, K.** Outbreak of neonatal listeriosis associated with mineral oil. *Pediatr. Infect. Dis. J. 10:*183-189, 199l.
5. **Farber, J.M.;Peterkin, P.I; Carter, A.C.; Varughese, P.V.;Ashton, F.E. & Ewan, E.P.** Neonatal listeriosis deu to cross infection confirmed by isoenzime typing and DNA fingerpriting. *J. Infect. Dis.163:*927-928, 1991.
6. **Lamont, R.J. & Postlethwaite, R.** Carriage *of Listeria monocytogenes* and *its role in human infection. J.Infect., 13:*187-193, 1986.
7. **Campbell, D.M.** Human listeriosis in Scotland, 1967-1988. *J.Infect., 20:* 241-250, 1990.
8. **McGowan, A.P.; Cartlidge, P.H.T.; Macleod, F.& McLauchlin, J.** Maternal listeriosis in pregnacy without fetal or neonatal infection. *J. Infect., 22:*53-57, 1991.
9. **Kampelmacher E.H. & Von Noorle Jansen LM.** Further studies on the isolation *of listeria monocytogenes* in feces of pregnant women and neonates. *Zentralbl Bakterial Mikrobiol* Hyg. (A) 1972; *222:* 258-262.
10. **Moellering, R.C.; Medoff & Leech, I.** Antibiotic synergism agains *listeria monocytogenes.* Antimicrob. *Agents Chemotrer., 1:*30-34, 1972.
11. **Wiggins, G.L.; Albritton, W.L. & Feeley, J.C.** Antibiotic susceptibility of clinical isolates of *listeria monocytogenes. Antimicrob, Agents Chemother, 13:*854-860, 1978.
12. **Tuazon, C.V.; Shamsuddin, D. & Miller, H.** Antibiotic susceptibility and synergy of clinical isolates of *listeria monocytogenes. Antimicrob. Agents Chemother. 21:*525-527, 1982.
13. **Poulsen, P.N.; Carvajal, A.; Lester, A. & Andreasen, J.** *"in vitro"* susceptibility *of listeria monocytogenes* isolated from human blood and cerebrospinal fluid during the years 1958-1985. *Apmis, 96:*223-228, 1988.
14. **Farber, J.M. & Peterkin P.I.** *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. *Microb. Review. 55:*476-511,1991.
15. **Hofer, E. & Oliveira, L.M.A.** Sensibilidade antimicrobiana em amostras de *listeria* isoladas de diferentes fontes e regiões do Brasil. *Rev. Microbiol., 19* (2): 109-112, 1988.

Endereço para correspondência:
Profª Idalina Thiomi Inumary Nojimoto
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/UFG
Rua Delenda Rezende esq. c/1ª Avenida - Setor Universitário
Goiânia-GO
74605-050

O papel do exame do sêmen na infertilidade masculina II- Avaliação da atividade secretora das glândulas acessórias genitais

The role of semen analysis in the male infertility II- Evaluation of the secretory activity of the accessory genital glands

Fernando Tadeu Andrade-Rocha[1] *& Pedro Paulo Noel Gomes de Carvalho*[2]

RESUMO – Os autores apresentam uma revisão sobre o papel do exame do sêmen (espermograma) na investigação de infertilidade masculina. Neste trabalho abordam a avaliação da atividade secretora das glândulas acessórias genitais, com ênfase ao exame físico-químico do sêmen. São revisados conceitos atuais sobre a atividade funcional destas glândulas, metodologias de análise e a interpretação dos resultados encontrados neste exame.
PALAVRAS-CHAVE – Sêmen, infertilidade masculina, órgãos sexuais acessórios, plasma seminal, espermograma.

SUMMARY – The authors present a review on the role of the semen analysis (spermiogram) in the investigation of male infertility. In this paper, the evaluation of the secretory activity of the accessory genital glands is considered, with emphasis to the physico-chemical examination of the semen. Current concepts, methodologies of analysis and the interpretation of the results found in this examination are reviewed.
KEY WORDS – Semen, male infertility, accessory sex organs, seminal plasma, spermiogram.

INTRODUÇÃO

Infertilidade conjugal é um problema que afeta muitos casais e há diversos procedimentos clínicos e laboratoriais para investigar sua etiologia. O exame do sêmen (espermograma) é um procedimento comumente adotado nesta investigação, pois sua rotina dá muitas informações sobre a atividade funcional dos órgãos genitais, contribuindo significativamente para avaliar o fator masculino.

Na primeira parte deste trabalho[1], os autores revisaram o papel do espermograma na infertilidade masculina, destacando a análise das características dos espermatozóides e de suas células precursoras. No presente trabalho, os autores dão seqüência a esta revisão, abordando a avaliação da atividade secretora das glândulas acessórias genitais, com ênfase ao exame físico-químico do sêmen. Conceitos atuais sobre esta avaliação, metodologias de análise e a interpretação dos resultados encontrados são abordados nesta revisão.

Considerações gerais sobre o plasma seminal

Além dos testículos, diversas glândulas acessórias formam o aparelho genital masculino, as quais incluem os epidídimos, as vesículas seminais, a próstata e as glândulas bulbo-uretrais ou de Cowper e uretrais ou de Littré (veja ilustração na Figura 1). A principal função destas glândulas é a secreção de líquidos, sob controle hormonal, que se misturam durante a ejaculação para formar o plasma seminal. Esta estrutura contém numerosos produtos bioquímicos essenciais para os espermatozóides e serve como meio de transporte destas células até o trato genital feminino. Cerca de 90% do **plasma seminal** é constituído por secreções oriundas da próstata e das vesículas seminais.[2]

Apesar de a penetração espermática no muco cervical ser muito rápida (a maioria dos espermatozóides penetram até 5 minutos após a ejaculação[3]), o plasma seminal exerce um papel importante para a fertilização, pois mantém a capacidade de mobilização dos espermatozóides, além de protegê-los das condições adversas do meio vaginal, sobretudo da sua acidez.[4] Entretanto, dá-se pouco valor a análise do plasma seminal na rotina do espermograma, pois há poucos dados na literatura, associando alterações em marcadores funcionais glandulares com infertilidade masculina. Contudo, tais marcadores refletem a atividade secretora das glândulas acessórias, pois seus valores geralmente alteram nos distúrbios funcionais glandulares.

Nos próximos itens deste trabalho, os autores revisam conhecimentos atuais sobre estes marcadores e sua importância para a investigação de infertilidade masculina.

Recebido em 07/04/97
Laboratório Dr. Homero Soares Ramos
Departamento de Reprodução Humana e Andrologia
[1]Farmacêutico-bioquímico
[2]Médico urologista

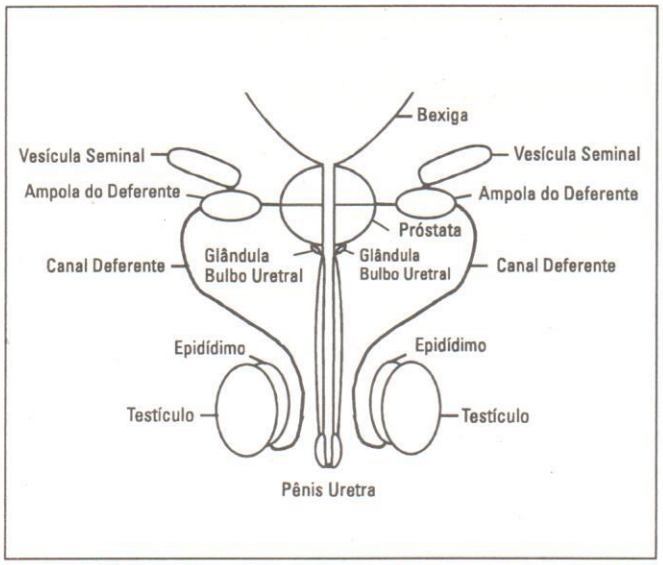


Figura 1 – Esquema representativo dos órgãos gentais masculinos

Avaliação da atividade secretora dos epidídimos

Os epidídimos desempenham as seguintes funções biológicas[5,6]: 1- desenvolvem a capacidade de mobilização e de fertilização dos espermatozóides (maturação espermática); 2- eliminam espermatozóides não ejaculados; 3- removem os resíduos da espermatogênese; 4- reabsorvem o fluido testicular e produtos bioquímicos aproveitáveis; 5- armazenam espermatozóides maduros, na cauda, até a ejaculação; 6- secretam o fluido epididimário, que contém diversos produtos essenciais para a maturação espermática.

Para avaliar a atividade secretora dos epidídimos, comumente faz-se a determinação dos níveis seminais de algumas substâncias secretadas nestes ductos genitais: alfa-1,4-glicosidase, carnitina e glicerilfosforilcolina.

Alfa-1,4-glicosidase - Sua determinação serve para investigar azoospermias obstrutivas[7] e para caracterizar astenozoospermias oriundas de disfunções epididimárias.[8] Em ambas, a atividade desta enzima encontra-se reduzida no plasma seminal. Para determinação da atividade da alfa-1,4-glicosidase, comumente usa-se o método de Chapdelaine *et al.*[9], cujos valores normais variam entre 332 e 600 unidades/grama de proteína.

Carnitina - Esta substância regula a entrada de ácidos graxos nas células, especialmente nas mitocôndrias, sendo produzida na forma livre pelos epidídimos e armazenada na cauda destes órgãos.[10] Há ainda evidências, que a carnitina atua no desenvolvimento da capacidade de fertilização dos espermatozóides, durante a maturação espermática.[11]

Os níveis seminais desta substância também diminuem nas azoospermias obstrutivas, ou de origem testicular[12] e em oligozoospermias oriundas de disfunções epididimária.[13] Sua determinação comumente é feita pelo método de Marquis & Fritz[14], cujos valores normais variam entre 0,295 e 0,343 micromoles/mililitro.

Glicerilfosforilcolina (GPC) - Sua concentração seminal também diminui nas azoospermias obstrutivas[7], após vasectomia[15] e em pacientes inférteis, quando comparados com pacientes férteis[16], sugerindo que esta substância esteja envolvida no desenvolvimento da capacidade de fertilização dos espermatozóides. Por outro lado, a concentração de GPC aumenta consideravelmente após reversão de vasectomia (vasovasostomia).[17]

Para medir os níveis seminais de GPC são usados os métodos de Dawson *et al.*[18], de Hammerstedt[19] e de Frenkel *et al.*[7] Os valores normais variam entre 0,735 e 0,935 micromoles/mililitro.

Ressalta-se que os níveis seminais destes marcadores epididimários reduzem consideravelmente nas azoospermias obstrutivas, mas esta característica não é suficiente para definir o diagnóstico, pois tal redução também ocorre nas azoospermias oriundas de disfunções no epitélio germinativo.[7]

Avaliação da atividade secretora das vesículas seminais

As vesículas seminais contribuem com a maior parte da fração líquida do sêmen (cerca de 60%[1]) e a avaliação de sua atividade secretora é feita através da análise das características físicas do ejaculado e pela determinação dos níveis seminais de produtos bioquímicos secretados por estas glândulas, que são relatados a seguir:

Coagulação seminal

Este processo biológico é importante para a viabilidade e para a motilidade espermática, porque o coágulo seminal protege os espermatozóides das adversidades do meio vaginal após o coito. Em 20 a 25% dos casais inférteis , o homem pode apresentar coagulação pobre, devido a uma deficiência na atividade secretora das vesículas seminais[20], que é o principal sítio de produção dos fatores de coagulação do sêmen. As vesículas seminais produzem proteínas[21,22,23], frutose[24], N-acetilaminoaçúcar[20], ácido siálico[25], fósforo inorgânico[26] e cobre[27], substâncias envolvidas na coagulação do sêmen.

Em condições normais, o sêmen é ejaculado na forma líquida, mas imediatamente transforma-se em um gel altamente viscoso, que liquefaz-se *in vitro*, dentro de 10 a 20 minutos[21] (até 40 ou 60 minutos para outros autores), reduzindo gradualmente sua viscosidade e liberando simultaneamente a motilidade espermática. Porém o mecanismo através do qual o sêmen coagula não é bem estabelecido. *In vivo*, o coágulo seminal dura cerca de 5 minutos.[28]

No espermograma avalia-se a coagulação do sêmen por um método muito simples[26], baseado na medida de sua intensidade, um minuto após a ejaculação, que é classificada em 4 graus: 1- **coagulação ausente;** 2- **coagulação pobre ou de pouca intensidade;** 3- **coagulação moderada;** 4- **coagulação intensa**. Sêmens com coagulação moderada e intensa são considerados normais. A intensidade do coágulo seminal também pode ser medida em percentagem.[29]

Volume e pH

Na composição do sêmen, a quantidade de líquidos secretados pelas vesículas seminais é mais ou menos constante, mesmo que o indivíduo ejacule mais de uma vez por dia[30], mas este padrão secretório sofre interferência de diversos fatores, que aumentam ou diminuem o volume de líquido secretado. Por exemplo, em vesiculites e próstato-vesiculites, comumente detecta-se baixos volumes seminais e alterações significativas no pH. O mesmo ocorre nas azoospermias obstrutivas[31] e na agenesia dos canais deferentes e das vesículas seminais.[32] Por outro lado, sêmens que apresentam volume aumentado também sugerem a presença de disfunção glandular nas vesículas seminais ou na próstata.[33] Nestes distúrbios, a determinação de marcadores bioquímicos ajuda na identificação de sua origem.

Em relação ao pH, as secreções das vesículas seminais são mais alcalinas do que a secreção prostática.[34] Assim, qualquer pH seminal igual ou menor que 7,2 sugere uma deficiência na atividade secretora destas glândulas. Neste caso, também ocorrem alterações em outros marcadores funcionais.

Sabe-se que valores anormais no volume e pH não alteram significativamente a densidade espermática, mas causam efeitos deletérios sobre a motilidade espermática, provocando astenozoospermia.[35]

Frutose

A frutose é importante para o metabolismo dos espermatozóides[36] e apresenta uma relação inversa com a contagem de espermatozóides e com a motilidade espermática[37,38,39], devido ao fato deste carboidrato sofrer um processo conhecido como frutólise[40], o qual serve como fonte de energia para os espermatozóides.

As secreções das vesículas seminais apresentam elevadas concentrações de frutose e a determinação deste carboidrato no sêmen serve então para avaliar a capacidade secretora destas glândulas genitais. Sua concentração diminui nas disfunções glandulares, sobretudo nas infecções e processos obstrutivos.[41] Na agenesia dos canais deferentes, a frutose não é detectada no plasma seminal, pois as vesículas seminais têm a mesma origem embrionária destes ductos genitais, estando também ausentes. O mesmo acontece em alguns processos patológicos.[42]

Pelo fato da atividade secretora das vesículas seminais ser regulada pela testosterona, níveis seminais de frutose foram anteriormente associados com a atividade androgênica testicular, supondo-se que a frutose, indiretamente, é um marcador da ação da testosterona sobre os testículos.[43,44,45] Porém, esta relação não é bem estabelecida.

A determinação da concentração seminal de frutose é feita por métodos colorimétricos[46,47] e seus valores são expressos em miligramas/mililitro (valores normais entre 1,1 e 4,8 mg/ml) ou micromoles/ejaculado (valores >13 micromoles/ejaculado são considerados normais), sendo que estes valores são maiores em pacientes mais jovens.

Ressalta-se que oscilações na concentração seminal de frutose são comuns, em condições normais, na abstinência sexual prolongada e quando são feitos vários exames do mesmo paciente.[37]

Prostaglandinas

Estas substâncias atuam na contração muscular do trato genital masculino, durante a ejaculação[48] e como regulador fisiológico da motilidade espermática, sob mediação da adenosina trifosfato.[49] As prostglandinas também influenciam na penetração espermática no muco cervical[49] e na capacidade de fertilização do homem.[50]

A determinação dos níveis seminais destas substâncias é bastante complexa e de difícil realização na rotina do espermograma, sendo feita apenas em casos especiais. Métodos por radioimunoensaio[51] e por cromatografia[52] são mais usados e determinam cada fração de prostglandina (PGE 1,2,3, PGF 1α, PGF 2α, 19-OH-PGE e 19-OH-PGF).

Fósforo inorgânico

A função biológica do fósforo inorgânico seminal não é bem definida, mas sabe-se que este cátion, produzido pelas vesículas seminais, é essencial para o metabolismo dos espermatozóides e que considerável quantidade de fósforo inorgânico é liberada durante a liquefação seminal.[29] Sua concentração diminui em pacientes com infecção genital[53], cuja cura promove rápida normalização de seus níveis seminais, sendo considerado então um bom marcador funcional glandular. Níveis seminais de fósforo inorgânico também reduzem nas azoospermias[53] e são próximos de zero, na agenesia dos canais deferentes e das vesículas seminais (observação pessoal dos autores).

A dosagem de fósforo inorgânico no sêmen é feita por método colorimétrico[54] e os valores normais variam entre 370 e 700 microgramas/mililitro.

Avaliação da atividade secretora da próstata

A próstata contribui com cerca de 1/3 da fração líquida do sêmen e sua atividade funcional também é avaliada no espermograma, através do exame físico do ejaculado e da análise de produtos bioquímicos secretados nesta glândula, como segue:

Liquefação seminal

Este processo fisiológico, que é imediato à ejaculação, envolve uma série de alterações nas características físicas do sêmen mas seu mecanismo ainda não é bem definido. Estudos anteriores mostraram que há uma degradação do conteúdo protéico do coágulo seminal, mediante a ação de enzimas proteolíticas[55,56], mas outras substâncias também estão envolvidas neste processo.[56,57,58,59]

Em condições normais, o tempo de liquefação do sêmen varia entre 10 e 40 minutos, podendo estender-se até 1 hora. Quando o sêmen apresenta baixos níveis de enzimas proteolíticas, a dissolução do coágulo é deficiente e demora mais de 1 hora. Esta liquefação parcial geralmente completa-se até 6 horas após a ejaculação, mas alguns semens não se coagulam, mesmo após 24 horas. Neste caso, forma-se um coágulo único, indissolúvel e de alta viscosidade, que dificulta a motilidade espermática. Tais anormalidades geralmente são associadas com disfunções na atividade secretora da próstata.

Volume e pH

Assim como as vesículas seminais, o padrão secretório da próstata também é constante, mas altera-se nas disfunções glandulares, aumentando ou diminuindo o volume de secreção prostática no ejaculado. Porém, estas alterações são de difícil caracterização no exame do sêmen, pois a maior parte do volume ejaculado é secretada pelas vesículas seminais. Na prática, observa-se que as alterações no volume seminal, quando decorrentes de mudanças na atividade secretora da próstata, geralmente associam-se com alterações em outros marcadores funcionais (e.g., ácido cítrico e zinco), que são mais específicos para caracterizar a disfunção glandular. Isto ocorre, por exemplo, em prostatite, na qual é mais evidente a redução dos níveis seminais de tais marcadores bioquímicos[34], do que alterações no volume seminal.

Quanto ao pH, é bem estabelecido que a secreção prostática apresenta pH mais ácido, ao contrário das secreções das vesículas seminais. Deste modo, semens com pH >8,0 geralmente indicam uma redução na atividade secretora da próstata. Neste caso, marcadores bioquímicos destas glândulas também encontram-se diminuídos. Porém, tal como a análise do volume ejaculado, a determinação do pH seminal é de valor relativo para o diagnóstico de disfunções prostáticas, na maioria dos casos.

Ácido cítrico

O ácido cítrico não tem uma função biológica bem definida, mas sabe-se que este produto bioquímico exerce um papel importante na fixação de íons cálcio (Ca2+), provavelmente para removê-los e evitar a formação de cálculos prostáticos.[60] O ácido cítrico também atua na manutenção do equilíbrio osmótico do sêmen, juntamente com o sódio e o potássio e na estabilização das enzimas proteolíticas, durante a liquefação seminal.[61]

Os níveis de ácido cítrico aumentam quando há uma redução na atividade secretora da vesículas seminais, ao passo que sua diminuição é observada principalmente em prostatites.[62] A dosagem de ácido cítrico no sêmen é feita por métodos colorimétricos[63,64] e os valores normais variam entre 2,5 e 8,0 miligramas/mililitro.

Cálcio

O cálcio é o cátion de maior concentração no sêmen, no qual apresenta-se sob 2 formas, como cálcio combinado, produzido principalmente pela próstata e como cálcio ionizado (Ca^{2+}), secretado pelas vesículas seminais.[65] Porém, apenas 3% do cálcio seminal encontra-se na forma ionizada.

O papel do cálcio na fisiologia do sêmen também não é bem definido, mas sabe-se que este cátion é importante para a maturação espermática, pois interage com a ATP nos epidídimos, para movimentar o flagelo espermático.[66] Porém, após a ejaculação, a capacidade de mobilização do espermatozóide depende essencialmente do conteúdo intracelular de Ca^{2+}. Quando aumenta o influxo de Ca^{2+} nos espermatozóides, há uma simultânea redução da motilidade espermática. Deste modo, íons cálcio ativam a motilidade espermática nos epidídimos, mas, em contraste, também podem inibir a motilidade do espermatozóide maduro.

Hong *et al.*[67] demonstraram, que para regular os níveis seminais de Ca^{2+} e sua interação com os espermatozóides, as vesículas seminais secretam a **proteína fixadora de cálcio**, que transforma o cálcio ionizado em cálcio combinado, o qual não penetra no espermatozóide. Ao mesmo tempo, estas glândulas secretam outra proteína denominada **proteína inibidora do cálcio**, que fixa-se simultaneamente no cálcio ionizado e na membrana espermática. O cálcio ionizado somente é liberado da proteína inibidora após a capacitação espermática. Assim, a proteína fixadora regula a entrada de cálcio nos espermatozóides, ao passo que, a proteína inibidora evita a reação acrossômica, antes da capacitação espermática.

Considerando a importância da proteína fixadora para a motilidade espermática e da proteína inibidora para os eventos pré-fertilização, tais autores levantaram a hipótese da produção destas proteínas, pelas vesículas seminais e de cálcio pela próstata, serem as principais funções biológicas destas glândulas genitais. Entretanto, tal hipótese foi pouco estudada até o momento.

A determinação dos níveis seminais de cálcio (cálcio total) não é feita de rotina no espermograma, apesar de os métodos empregados integrarem a rotina de qualquer laboratório.[68,69] O cálcio seminal também pode ser medido por espectrofotometria por absorção atômica e os valores normais variam entre 125 e 370 microgramas/mililitro. A diminuição do cálcio reduz a qualidade do sêmen[70] e a causa principal desta redução são as disfunções prostáticas, inclusive aquelas resultantes de infecções. Por outro lado, níveis seminais de cálcio aumentados são observados em algumas disfunções testiculares (observação pessoal dos autores). Sabe-se ainda, que a quelação entre o cálcio ionizado e o citrato também reduz a qualidade do sêmen[71] e que o influxo de cálcio no espermatozóides antes da reação acrossômica é fundamental para a fertilização.[72,73]

Fosfatase ácida

Esta enzima de origem prostática cataliza a hidrólise da fosforilcolina, uma reação que libera colina livre e fosfato, este, um componente importante para o metabolismo dos espermatozóides.[18] Esta reação ocorre durante a liquefação do sêmen.

A atividade da fosfatase ácida altera-se significativamente em prostatites[74], em patologias de próstata[75] e em alguns distúrbios funcionais de origem testicular.[76,77] Entretanto, a atividade desta enzima praticamente não apresenta correlação com infertilidade masculina e seu valor clínico praticamente restringe-se à investigação de prostatite, na qual apresenta-se com atividade diminuída em alguns casos.

A determinação da atividade da fosfatase ácida no sêmen é feita com o método que usa p-nitrofenilfosfato como substrato[78] e os valores normais variam entre 135 e 1.129 unidades/mililitro.

Magnésio

O magnésio no plasma seminal tem origem na próstata[79] e sua concentração diminui principalmente em prostatites, retornando imediatamente ao normal, após a cura do processo infeccioso.[53] Do mesmo modo que o cálcio, o magnésio também é absorvido pelos espermatozóides, sob controle da próstata. Assim, quando há uma redução na atividade secretora glandular, simultaneamente aumenta a concentração de magnésio nos espermatozóides, o que afeta a qualidade do sêmen.[80]

A análise do magnésio no plasma seminal é feita por método colorimétrico[81], ou por espectrofotometria por absorção atômica[79] e os valores normais variam entre 55 e 135 microgramas/mililitro.

Zinco

Este cátion é secretado principalmente pela próstata.[73] Durante sua síntese, ele combina com citrato, formando um complexo, que é rompido logo após a ejaculação, para dar origem a um novo complexo, desta feita, entre o zinco e proteínas de variável peso molecular oriundas das vesículas seminais. Estas transformações fazem parte de um mecanismo que regula a absorção de zinco pelos espermatozóides. Além de ser necessário para o metabolismo espermático[65], tal controle é essencial, uma vez que o aumento de absorção de zinco pelos espermatozóides causa efeitos deletérios na motilidade espermática. Do mesmo modo que o cálcio e o magnésio, este aumento ocorre, quando há um decréscimo na atividade secretora da próstata.[82] O zinco seminal também é importante para a estabilização da cromatina[83] e da membrana espermática.[84]

Aparentemente, o zinco, assim como outros produtos de origem prostática, não correlaciona-se com a densidade espermática, apesar de Stankovic & Mikac-Devic[85] terem reportado a redução deste cátion em semens oligozoospérmicos e azoospérmicos. Por outro lado, sua concentração reduz consideravelmente em prostatites,[86] inclusive aquelas causadas por micoplasmas (observação pessoal dos autores).

A determinação do zinco no plasma seminal é feita por métodos colorimétricos[87,88,89] e por espectrofotometria por absorção atômica[90] e os valores normais variam entre 90 e 250 microgramas/mililitro.

CONCLUSÃO

A avaliação da atividade secretora das glândulas acessórias genitais é um procedimento pouco usado na rotina do espermograma, mas sabe-se que as disfunções glandulares podem afetar a qualidade do sêmen. A Organização Mundial de Saúde[64] recomenda a inclusão de pelo menos um marcador para cada função glandular na rotina do espermograma (e.g., ácido cítrico para a próstata, frutose para as vesículas seminais e α-1,4 glicosidase para os epidídimos), para avaliar a atividade secretora das glândulas genitais. Como a próstata e as vesículas seminais contribuem com mais de 90% do ejaculado, a análise de marcadores destas glândulas é mais comum e há vários métodos disponíveis na rotina laboratorial.

Ressaltamos ainda, que o exame físico do ejaculado (coagulação, liquefação, volume, viscosidade, cor e pH) também fornece alguns resultados significativos, principalmente quando associados com marcadores bioquímicos e, desta forma, deve ser incluído na rotina do exame do sêmen.

Até o momento, poucos estudos estabeleceram conceitos bem definidos sobre a fisiopatologia das glândulas acessórias genitais e seus efeitos sobre o sêmen. Em

nossa rotina, freqüentemente observamos alterações nestes parâmetros seminais. Portanto, futuros estudos são necessários para se obter melhores informações sobre a atividade secretora destas glândulas, seus distúrbios funcionais, inclusive as patologias de próstata, que são muito comuns e sua relação com infertilidade masculina. Há muito para se pesquisar a respeito.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Bruno Lessa Alexandrino por sua contribuição na digitação do texto e a Jorge Eduardo de Amorim Marinho pela montagem da ilustração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Andrade-Rocha F.T., Carvalho P.P.N.G.** O papel do exame do sêmen na infertilidade masculina. I- Análise das características dos espermatozóides e de suas células precursoras. *Rev. Bras. An. Clín. 28*:171-178,1996.
2. **Lundquist F.** Aspects of biochemistry of human semen. *Acta Physiol. Scand. 19*(suppl.66):1-105,1949.
3. **Sobrero A.J., MacLeod J.** The immediate postcoital test. *Fertil Steril 13*:184-189,1962.
4. **Overstreet J.W., Coats C., Katz D.F., Hanson F.W.** The importance of seminal plasma for sperm penetration of cervical mucus. *Fertil Steril 34*:569-572,1980.
5. **Cosentino M.J., Cockett A.T.K.** Review article: Structure and function of the epididymis. *Urol. Res. 14*:229-240,1986.
6. **Cooper TG.** Role of the epididymis in mediating changes in the male gamete during maturation. *Adv. Exp. Med. Biol. 377*:87-101,1995.
7. **Casano R., Orlando C., Caldini A.L., Barni T., Natali A., Serio M.** Simultaneous measurement of seminal L-carnitine, α,1-4 glucosidase, and glycerylphosphorylcholine in azoospermic and oligozoopermic patients. *Fertil Steril 47*:324-328,1987.
8. **Viljoen M.H., Bornman M.S., van der Merwe M.P., du Plessis D.J.** Alpha-glucosidase activity and sperm motility. *Andrologia 22*:205-208,1990.
9. **Chapdelaine P., Tremblay R.R., Dubé J.Y.** P-nitrophenol-α-D-glucopyranoside as substrate for measurement of maltase activity in human semen. *Clin. Chem. 24*:208-211,1978.
10. **Wetterauer U., Heite H.J.** Carnitine in seminal fluid as parameter for the epididymal function. *Andrologia 10*:203-210,1978.
11. **Turner T.T.** On the epididymis and its function. *Invest. Urol. 16*:311-321,1979.
12. **Menchini-Fabris G.F., Canale D., Izzo P.L., Olivieri L., Burtelloni M.** Free L-carnitine in human semen: its variability in different andrologic pathologies. *Fertil Steril 42*:263-267,1984.
13. **Ben Ali H., Guerin J.F., Bouzakoura C., Czyba J.C.** Intérêt du dosage de l'alpha-1,4-glucosidase et de la L-carnitine séminalus chez des sujets oligoasthénospermiques. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Repr. 20*:783-789,1991.
14. **Marquis N.R., Fritz I.B.** Enzymological determination of free carnitine concentrations in rat tissues. *J. Lipid. Res. 5*:184-187,1964.
15. **Frenkel G., Peterson R.N., Davis J.E., Freund M.** Glycerylphosphorylcholine and carnitine in normal human semen and postvasectomy semen: differences in concentrations. *Fertil. Steril. 25*:84-87,1974.
16. **Jeyendran R.S., van der Ven H.H., Rosecrans R., Perez-Pelaez M., Al-Hasani S., Zaneveld L.J.D.** Chemical constituents of human seminal plasma: relationship to fertility. *Andrologia 21*:423-428,1989.
17. **Giovenco P., Calamera J.C., Dondero F., Pacifici R., Vilar O.** Glycerylphosphorylcholine in selected forms of male infertility. *Andrologia 18*:171-174,1986.
18. **Dawson R.M.C., Mann T., White I.G.** Glycerylphosphorylcholine and phosphorylcholine in semen and their relation to choline. *Biochem J. 65*:627-634,1957.
19. **Hammerstedt R.H.** A rapid method for the determination of glycerylphosphorylcholine in rabbit and bull seminal plasma. *Anal. Biochem. 58*:272-275,1974.
20. **Mandal A., Bhattacharyya A.K.** Aminosugar levels in normally coagulating and poorly coagulating human ejaculates. *Int. J. Fertil. 35*:253-256,1990.
21. **Mandal A., Bhattacharyya A.K.** Isolation of the predominant coagulum protein of human semen before liquefaction. *Hum. Reprod. 9*:320-324,1994.
22. **Mandal A., Bhattacharyya A.K.** Collective isolation of two major, close molecular weight coagulum proteins occurring in human semen before liquefaction. *Int. J. Androl. 17*:63-67,1994.
23. **Mandal A., Bathacharyya A.K.** First report on purifiction of the predominant acidic coagulum protein of human semen prior to liquefaction. *Andrologia 26*:211-215,1994.
24. **Montagnon D., Clavert A., Cranz C.** Fructose, proteins and coagulation in human seminal plasma. *Andrologia 14*:434-439,1982.
25. **Mandal A., Bhattacharyya A.K.** Physical properties and non-enzymic components of human ejaculates. Relationship to spontaneous liquefaction. *Int. J. Androl. 8*:224-231,1985.
26. **Mandal A., Bhattacharyya A.K.** Studies on the coagulational characteristics of human ejaculates. *Andrologia 17*:80-86,1985.
27. **Polak B., Daunter B.** Seminal plasma biochemistry. III- Characterization of coagulum components. *Europ. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 35*:223-234,1990.
28. **Tauber P.F., Zaneveld L.J.D.** Liquefaction and coagulation of human semen. *In: Human semen and fertility regulation in men.* Hafez ESE, ed.; Saint Louis, The CV Mosby Co., pg 153-166,1976.
29. **Mandal A., Bhattacharyya A.K.** Phosphate, zinc, calcium, citric acid, and acid phosphatase in human ejaculates as related to coagulation/liquefaction. *Arch. Androl. 19*:275-283,1987.
30. **Eliasson R.** Effect of frequent ejaculations on the composition of the human seminal plasma. *J. Reprod. Fertil. 9*:331-336,1965.
31. **Raboch J.** Some factors influencing the secretory activity of sexual accessory glands in men. *Fertil. Steril. 8*:227-232,1957.
32. **Amelar R.D., Hotchkiss R.S.** Congenital aplasia of the epididymides and vasa deferentia: Effects on semen. *Fertil. Steril. 14*:44-48,1963.
33. **Cooke S., Tyler J.P.P., Driscoll G.L.** Hiperespermia: the forgotten condition. *Hum. Reprod. 10*:367-368,1995.
34. **Eliasson R.** Analysis of semen. *In*: Progress in infertility. **Behrman S.J., Kistner RW**, eds.; Boston, Little, Brown and Co., pg. 691-713,1975.
35. **Dickerman Z., Sagiv M., Savion M., Allalouf D., Levinski H., Singer R.** Andrological parameters in human semen of high (>6 ml) and low (<1 ml) volume. *Andrologia 21*:353-362, 1989.
36. **Mann T.** Studies on the metabolism of semen. Fructose as a normal constituent of seminal plasma. Site of formation and function of fructose in semen. *Biochem. J. 40*:481-491,1946.
37. **Phadke A.M., Samant N.R., Deval S.D.** Significance of seminal fructose studies in male infertility. *Fertil Steril 24*:894-903,1973.
38. **Andrade-Rocha F.T.** Frutose no sêmen e sua relação com a contagem de espermatozóides. *Reprodução 8*:61-63,1993.
39. **Lewis-Jones D.I., Aird I.A., Biljan M.M., Kingsland C.R.** Effects of sperm activity on zinc and fructose concentrations in seminal plasma. *Hum. Reprod. 11*:2465-2467,1996.
40. **Vaishwanar P.S.** Fructolysis of human spermatozoa in semen. *Am. J. Obstet. Gynecol. 75*:139-143,1958.
41. **Gonzales G.F.** Corrected seminal fructose test. *Arch. Androl. 33*:17-22,1994.
42. **Aumuller G., Riva A.** Morphology and functions of the human seminal vesicle. *Andrologia 24*:183-196,1992.
43. **Dondero F., Sciarra F., Isidori A.** Relationship between plasma testosterone and human seminal fructose. *Folia Endocrinol. 23*:559-565,1970.

44. **Moon K.H., Bunge R.G.** Seminal fructose as an indicator of androgenic activity: *critical analysis. Invest. Urol. 8*:373-376,1971.
45. **Gonzales G.F.** Test for androgen activity at the reproductive tract in infertile men. *Arch. Androl. 32*:235-242,1994.
46. **Roe J.H.** A colorimetric method for the determination of fructose in blood and urine. *J. Biol. Chem. 107*:15-22,1934.
47. **Karvonen M.J, Malm M.** Colorimetric determination of fructose with indol. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. 7*:305-307,1955.
48. **Polakoski K.L., Syner F.N., Zaneveld L.J.D.** Biochemistry of human seminal plasma. *In: Human semen and fertility regulation in men.* Hafez ESE, ed.; Saint Louis, The CV Mosby Co., pg. 133-143,1976.
49. **Gottlieb C., Svanborg K., Eneroth P., Bygdeman M.** Effect of prostaglandins on human sperm function in vitro and seminal adenosine triphosphate content. *Fertil. Steril. 49*:322-327,1988.
50. **Bygdeman M., Fredricksson B., Svanborg K., Samuelson B.** The relation between fertility and prostaglandin content of seminal fluid in man. *Fertil Steril 21*:622-629,1970.
51. **Jaffe B.M., Behrman H.R., Parker C.W.** Raioimmunoassay measurement of prostaglandins E, A and F in human plasma. *J. Clin. Invest. 52*:398-405,1973.
52. **Bygdeman M., Samuelsson B.** Analysis of prostaglandins in human semen. Prostaglandins and related factor 44. *Clin. Chim. Acta. 13*:465-474,1966.
53. **Adamopoulos D.A., Deliyiannis V.** Seminal plasma magnesium, calcium and inorganic phosphate concentration in normozoospermic and subfertile men. *Andrologia 15*:648-654,1983.
54. **Gomorri G.** A new method for the determination of inorganic phosphate in biological fluids. *J. Lab. Clin. Med. 27*:955-957,1942.
55. **Tauber P.F., Propping D., Schumacher D.F.B., Zaneveld L.J.D.** Biochemical aspects of the coagulation and liquefaction of human semen. *J. Androl. 1*:280-288,1980.
56. **Matsuda Y., Oshio S., Yazaki T., Umeda T., Akihama S.** The effect of some proteinase inhibitors on liquefaction of human semen. *Hum. Reprod. 9*:664-668,1994.
57. **Daunter B., Hill R., Hennessey J., Mackay E.V.** Seminal plasma biochemistry. I- Preliminary report: A possible mechanism for the liquefaction of human seminal plasma and its relationship to spermatozoal motility. *Andrologia 13*:131-141,1981.
58. **Lilja H.** A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J. Clin. Invest. 76*:1899-1903,1985.
59. **Lee C., Keefer M., Zhao Z.W., Kroes R., Berg L., Liu X., Sensibar J.** Demonstration of the role of prostate-specific antigen in semen liquefaction by two-dimensional electrophoresis. *J. Androl. 10*:432-438,1989.
60. **Mann T., Lutwak-Mann C.** Biochemistry of human seminal plasma and male accessory fluids. *In: Male reproductive funtion and semen.* Mann T. & Lutwak-Mann C., eds.; New York, Springer, pg 269-336,1981.
61. **Mandal A., Bhattacharyya A.K.** Biochemical parameters of slowly liquefying human ejaculates. *Arch. Androl. 20*:141-145,1988.
62. **Wetterauer U.** Recommended biochemical parameters for routine semen analysis. *Urol. Res. 14*:241-246,1986.
63. **Chambon P.** Dosage de l'acide citrique dans le sang et le autres millieux biologiques. *Ann. Pharm. Franç. 21*:613-617,1963.
64. **World Health Organization.** WHO Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge, Cambridge University Press, 1992.
65. **Arver S.** Studies on zinc and calcium in human seminal plasma. *Acta. Physiol. Scand .507*(suppl.):1-21,1982.
66. **Prien S.D., Lox C.D., Messer R.H., DeLeon F.D.** Seminal concentrations of total and ionized calcium from men with normal and decreased motility. *Fertil. Steril. 54*:171-172,1990.
67. **Hong C.Y., Chiang B.N., Turner P.** Calcium ion is the key regulator of human sperm function. *Lancet 2*:1449-1451,1984.
68. **Bachra B.N., Dauer A., Sobel A.E.** The complexometric titration of micro and ultramicro quantities of calcium in blood serum, urine and salt inorganic solutions. *Clin. Chem. 4*:107-119,1958.
69. **Connerty H.V., Briggs A.R.** Determination of serum calcium by means of orthocresolphtalein complexone. *Am. J. Clin. Pathol. 45*:290-296,1966.
70. **Hommonai Z.T., Matzkin H., Fainman N., Paz G., Kraicer P.F.** The cation composition of the seminal plasma and prostatic fluid and its correlation to semen quality. *Fertil. Steril. 29*:539-542,1978.
71. **Ford W.C.L., Harrison A.** The role of citrate in determining the activity of calcium ions in human semen. *Int. J. Androl. 7*:198-202,1984.
72. **Ward C.R., Kopf G.S.** Molecular events mediating sperm activation. *Dev. Biol. 158*:9-34,1993.
73. **Fraser L.R.** Cellular biology of capacitation and the acrosome reaction. *Hum. Reprod. 10* (suppl.1):22-30,1995.
74. **Girgis S.M., Deinasury M.K., El-kodary M., Metawy M., Moussa M.M., Momen N., Saleh S.M.** Diagnostic value of determination of acid and alkaline phosphatase levels in the seminal plasma of infertile males. *Andrologia 13*:330-334,1981.
75. **Korth K., Wetterauer W., Wetterauer U., Heite H.J.** Zitrat und säure Phosphatase im Ejakulat bei Prostatakarzinom und Prostata-Adenom. *Hautartzt 29*:487-489,1978.
76. **Andò S., Carpino A., Buffone M., Maggiolini M., Giacchetto C., Seidita F.** Fructose, prostatic acid phosphatase and zinc levels in the seminal plasma of varicoceles. *Int. J. Fertil. 35*:249-252,1990.
77. **Andrade-Rocha F.T.** Fosfatase ácida no sêmen e sua relação com a contagem de espermatozóides. *J. Bras. Urol. 17*:253-255,1991.
78. **Andersch M.A., Szczypinski A.J.** Use of p-nitrophenylphosphate as the substrate in determination of serum acid phosphatase. *Am. J. Clin. Pathol. 17*:571-574,1947.
79. **Eliasson R., Lindholmer C.** Magnesium in human seminal plasma. *Invest. Urol. 9*:286-289,1972.
80. **Lindholmer C., Eliasson R.** Zinc and magnesium in human spermatozoa. *Int. J. Fertil. 17*:153-160,1972.
81. **Bohuon C.** A colorimetric method for the determination of magnesium in serum and urine. *Clin. Chim. Acta 7*:811-814,1962.
82. **Lindholmer C., Eliasson R.** *In vitro* release and uptake of zinc and magnesium by human spermatozoa. *Int. J. Fertil. 19*:56-62,1974.
83. **Kvist U., Kjellberg S., Bjorndahl L.** Seminal fluid from men with agenesis of the Wolffian ducts: zinc binding properties and effects on sperm chromatin stability. *Int. J. Androl. 13*:245-252,1990.
84. **Mawhinney M.G., Tarry W.E.** Male accessory sex organs and androgen action. *In*:Infertility in the male. **Lippshultz L.I. & Howard S.S.**, eds.; **St. Louis, C.V. Mosby** Co., pg 124-154,1991.
85. **Stankovic H., Mikac-Devic D.** Zinc and cooper in human semen. *Clin. Chim. Acta. 70*:123-126,1976.
86. **Abyholm T., Kofstad J., Molne K., Stray-Pedersen S.** Seminal plasma fructose, zinc, magnesium and acid phosphatase in cases of male infertility. *Int. J. Androl. 4*:75-81,1981.
87. **Vallee B.L., Gibson J.G.** A improved dithizone method for the determination of small quantities of zinc in blood and tissue samples. *J. Biol. Chem. 176*:435-443,1948.
88. **Fuentes J., Miró J., Riera J.** Simple colorimetric method for seminal plasma zinc assay. *Andrologia 14*:322-327,1982.
89. **Lampugnani L., Maccheroni M.** Rapid colorimetry of zinc in seminal fluid. *Clin. Chem. 30*:1366-1368,1984.
90. **Eliasson R., Lindholmer C.** Zinc in human seminal plasma. *Andrologia 3*:147-153,1971.

Endereço para correspondência:
Rua Irmãos D'Ângelo 48 sala 101
25.685-330 Petrópolis, RJ
Telefax (0242)-426173

Mycobacterium tuberculosis resistentes à isoniazida e a rifampicina

Mycobacterium tuberculosis resistant to isoniazid and rifampicina

*Pedro Eduardo Almeida da Silva**

RESUMO – Este trabalho avalia o perfil de resistência à isoniazida e a rifampicina apresentadas por cepas de *Mycobacterium tuberculosis.* Os microrganismos foram isolados no Hospital Universitário da cidade do Rio Grande, no período de 1991 a 1994, a partir de pacientes divididos em três categorias: a) sem tratamento prévio para tuberculose e sorologia desconhecida para o HIV, b) pacientes com sorologia positiva para o HIV e c) com tratamento prévio para tuberculose. Os resultados encontrados para o primeiro grupo não coincidem com os mencionados na literatura, enquanto os achados dos outros dois grupos estão semelhantes aos apresentados em outros estudos.
PALAVRAS-CHAVE – *Mycobacterium tuberculosis*, resistência, HIV, tratamento prévio.

SUMMARY – This work evaluate the profile of resistance to isoniazid and rifampicina showed by strains Mycobacterium tuberculosis. *The microorganism got isolate in the Hospital University of the city Rio Grande, 1991 - 1994, of patients distribute in three class: a) without treatment to tuberculosis and sorology unknow to HIV, b) patients positive for HIV and c) with treatment previous for tuberculosis. The results finded to first class don't coincide with the refered in the bibliografy, while the finding of two class is similar showed in others studies.*
KEY WORDS – Mycobacterium tuberculosis, *resistance, HIV, treatment previous.*

INTRODUÇÃO

Aproximadamente dois bilhões de pessoas, em todo o mundo, estão infectadas com o bacilo da tuberculose e cerca de oito milhões de novos casos ocorrem a cada ano, ocorrendo três milhões de mortes.[3,12,22,27]

Até pouco tempo atrás a incidência de tuberculose, especialmente nos países desenvolvidos, apresentava acentuada e constante queda.[12] Nos Estados Unidos, de 1953 a 1984 a incidência de tuberculose declinou progressivamente, entretanto a partir de 1985 houve uma reversão nesta tendência com um número de casos muito acima do previsto.[10,21,27]

Embora a quimioterapia tenha acentuado a velocidade do declínio[23] a maior responsabilidade pela diminuição tem sido a melhoria de condições sócio-econômicas.[15]

Nas Américas, o problema da tuberculose se caracteriza pela grande variedade da magnitude e da eficiência dos esforços dos 34 países para o controle da enfermidade[6]. Conforme dados da OMS, o número total de casos para as Américas, excetuando Canadá e EUA, é de 569.000 em 1990, 606.000 em 1995 e estima-se 645.000 em 2.000.[8]

No Brasil, 35 a 45 milhões de pessoas estão infectadas, este quadro endêmico causa 100.000 novos casos da doença por ano e cerca de 4.000 a 5.000 mortes; estes dados colocam o Brasil numa posição intermediária, melhor que a média dos países do mundo, sendo mesmo assim considerada uma situação severa pela OPAS/OMS.

Observa-se que a incidência da tuberculose é maior na região Norte, seguida da região Nordeste, Sudeste e Sul[12]. (Fig.1).

Em 1971 admitiu-se que a tuberculose era um problema de saúde pública do Rio Grande do Sul, estado situado no extremo-sul do Brasil, que justificava plenamente a implantação de atividades de controle desta enfermidade em todos os seus municípios.

A observação da incidência de casos novos de tuberculose pulmonar, no período de 1977 a 1986, evidenciou que a distribuição da doença no Rio Grande do Sul, assim como no país, também não era uniforme, com uma incidência maior na zona Sul e região Metropolitana de Porto Alegre. (Tab. I)

Nos dados obtidos entre 1983 a 1988 observa-se que enquanto os municípios da região Norte tinham uma incidência de 14,7/100.000, a região Metropolitana de Porto Alegre apresentava 54,7/100.000 e os municípios da região Sul mostravam um índice de 50,6/100.000.[18]

Pelos dados apresentados é possível inferir que a tuberculose, apesar de ser uma doença muito antiga, ainda permanece sendo um sério problema de saúde pública. O controle desta doença passa, necessariamente, pela eficácia diagnóstica e terapêutica.

No que diz respeito à terapia, à emergência de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes às drogas tem se associado aos outros fatores, como a falência do sistema de saúde, agravando o quadro epidemiológico da tuberculose.[3,9,17,21,24,25,27]

Recebido em 30/10/96
*Professor do Departamento de Patologia,
Universidade do Rio Grande FURG,
Rio Grande do Sul - Brasil

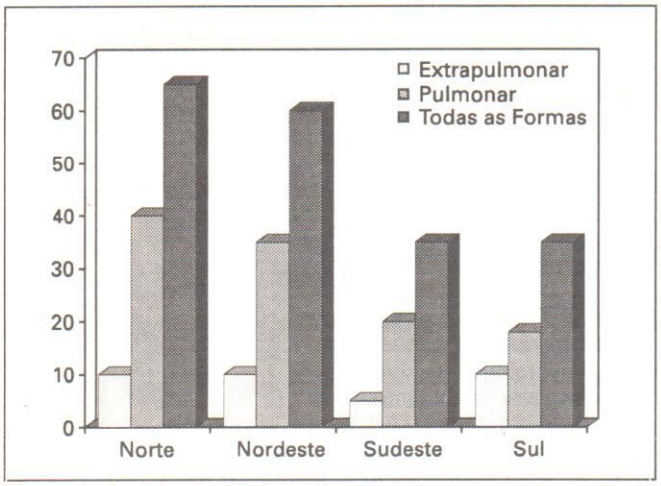


Figura 1 – Incidência de tuberculose nas diversas regiões do Brasil

Desde o primeiro uso oficial da estreptomicina, em 1947, cinco drogas têm emergido, como primeira linha para o tratamento da tuberculose: isoniazida, rifampicina, pirazinamida, etambutol e estreptomicina.[2]

O esquema terapêutico usual envolve quimioterapia multidroga por um período de diversos meses. O tratamento mais efetivo inclui isoniazida (INH) e rifampicina RMP, cuja combinação é eficaz para todas as formas de tuberculose causada pelo agente sensível.[10,17,25]

Mycobacterium tuberculosis – MULTIDROGA RESISTENTE (MTB-MDR)

Cerca de 95% das pessoas que recebem o tratamento adequado podem curar-se da tuberculose. Esta terapia usa, como mencionado anteriormente, duas ou mais drogas para as quais os microrganismos devem ser suscetíveis.[7,11,14,16]

No Brasil, o esquema utilizado consiste no tratamento por seis meses, utilizando inicialmente três drogas (Isoniazida, Rifampicina e Pirazinamida) durante dois meses, mantendo as duas primeiras drogas por mais quatro meses, HRZ/2 e HR/3.[5,16,18]

O conceito mais aceito de MTB-MDR, refere-se a cepas de bacilos resistentes, basicamente a RMP e INH[14,15,19], duas das mais importantes drogas no tratamento e controle desta enfermidade.[3]

A resistência adquirida ou secundária é a que surge durante o transcurso do tratamento e se mede pela porcentagem de pacientes já tratados que apresentam resistência. É um indicador útil sobre a qualidade dos programas de controle da tuberculose, informando sobre os resultados obtidos nos últimos anos.

Um dos maiores fatores de risco para o estabelecimento do MTB-MDR é a inadequada administração terapêutica, freqüentemente os dados de suscetibilidade às drogas encontram-se limitados no tempo e no espaço, não devendo ser aplicados às condições epidemiológicas distintas. A tuberculose é uma doença de base comunitária, influenciada pelos fatores epidemiológicos locais, e o conhecimento inadequado destes fatores pode levar a administração ineficaz de medicamentos antituberculosos.[21,26]

Além deste grupo, o MTB-MDR tem sido encontrado com freqüência em indivíduos portadores do HIV, sendo também relatado surtos em trabalhadores de hospitais, prisioneiros etc.[1,21]

TABELA I
Coeficientes médios de incidência de casos de tuberculose pulmonar bacilífera (novos), agrupadas em zonas, no período de 1997 a 1986, no Rio Grande do Sul

Região	População (1981)	Incidência
Norte	2.549.049	14,7
Central	1.825.603	34,6
Sul	1.208.229	50,6
Metropolitana	2.283.962	54,7

*Por 100.000 habitantes

Estudos realizados em Nova York estabeleceram que 23% das cepas de *Mycobacterium tuberculosis* isoladas de pacientes sem tratamento prévio mostraram resistência a alguma droga, o Center Disease Control (CDC) apresentou dados semelhantes relatando que 14,2% das cepas isoladas dos pacientes virgens de tratamento apresentavam resistência ao menos a uma droga e 3,5% mostraram resistência à rifampicina e isoniazida.[1]

Pacientes com terapia prévia para tuberculose apresentaram taxas de resistência de 57,6% na Arábia Saudita, 41% nos EUA e Haiti e 33,9% em Porto Rico.[11]

Em um estudo promovido pela Organização Panamericana de Saúde (OPS) e pela Organização Mundial de Saúde (OMS), entre 1986 e 1990, onde foram testadas cepas de 948 pacientes de dez países da América Latina, mostrou 16,8% de microrganismos resistentes a uma ou mais drogas.

A maioria dos estudos de resistência primária às drogas antituberculosas no Brasil foram realizados nas décadas de 60 e 70, estes estudos se referem a drogas utilizadas no tratamento naquele período, e portanto não inclui a rifampicina.

A vigilância da resistência às drogas é uma parte essencial no Programa de Controle de Tuberculose. Para realizar um diagnóstico da situação da resistência em um país ou numa região, é recomendável realizar durante um período pelo menos, a prova da sensibilidade em todos os pacientes.[13]

Os testes de sensibilidade não são recomendados, por motivos operacionais, para todos os pacientes com tuberculose, quando a taxa de resistência primária é inferior a 2-3% para cada droga testada individualmente, sendo entretanto recomendada para cada paciente membro da população de risco.[24]

No Brasil, a taxa média observada desde a década de 60 foi sempre superior a 10% e no último período estudado (1986 - 1988) foi de 15%.

O método utilizado neste trabalho será o das Proporções, que é o mais utilizado na França, EUA e na maioria dos países da América Latina, incluindo o Brasil.[6]

O Brasil é um país continental com diferenças regionais marcantes, para estabelecer um programa eficaz de controle da tuberculose é necessário conhecer as características epidemiológicas da doença em cada região e acompanhar o perfil da sensibilidade/resistência do MTB.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram testadas cepas isoladas a partir de diversos materiais clínicos obtidas de pacientes atendidos no Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Corrêa, na cidade do Rio Grande (zona sul do estado), bem como as cepas obtidas de indivíduos encaminhados pelo posto local da Secretaria de Saúde do Estado, com suspeita clínica de falência terapêutica.

TABELA II
Resistência a duas drogas

	Números de Cepas	Percentual
Grupo B	2	16,7
Grupo C	6	50

Estes materiais foram isolados no período compreendido entre 1991 e 1994. As amostras foram semeadas no meio de Löwenstein-Jensen após descontaminação pelo método de Petroff, excetuando aqueles materiais considerados estéreis (biópsias, liquor, etc.), que foram semeados diretamente.

Após semeados, os tubos foram incubados a 37°C por 60 dias. Foram realizadas leituras diárias nos primeiros sete dias e, semanalmente, no período restante. Quando observado crescimento, os cultivos foram corados pelo método de Ziehl-Neelsen, e quando positivas foram repicados em meio de Löwenstein-Jensen para identificação após 30 dias. Para identificação utilizou-se as provas de niacina, nitrato e inibição da produção de catalase a 68°C.[8]

Após a identificação as cepas foram testadas quanto à sensibilidade pelo método das proporções, conforme descrito por Canetti, Rist & Grosset em 1963[4], e consiste em detectar a proporção de bacilos resistentes em uma amostra de *Mycobacterium tuberculosis*, frente a uma concentração da droga que é capaz de inibir o desenvolvimento das células sensíveis mas não os das células resistentes.

As drogas utilizadas foram rifampicina e isoniazida nas concentrações críticas de 0,2 µg/ml e 40 µg/ml, respectivamente, sendo a proporção crítica de 1,0% para ambas as drogas[4].

O método da Proporções pode ser realizado a partir do material clínico (teste Direto) ou a partir da cultura (teste Indireto).[4,6] Neste trabalho o teste utilizado foi o Indireto.

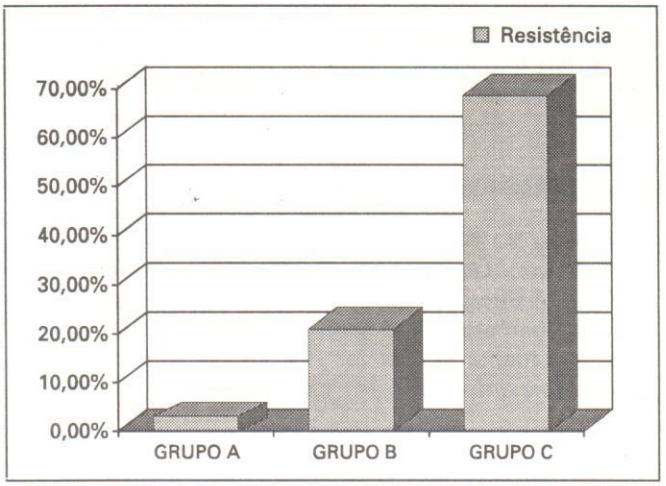


Figura 2 – Percentual de resistência das cepas dos diversos grupos

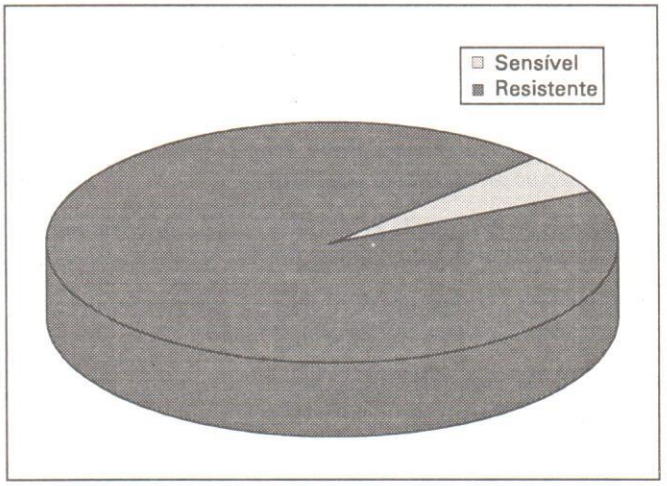


Figura 3 – Resistência primária

RESULTADOS

Foram testadas 85 cepas isoladas de pacientes divididos em três grupos: A) pacientes sem história prévia de tratamento para tuberculose e sorologia para o HIV desconhecida. B) pacientes HIV positivos e C) pacientes com tratamento prévio para tuberculose.

O percentual de resistência a pelo menos uma droga (Fig.2) mostra um acentuado aumento nos grupos B (18,7%) e C (66,7%) em relação ao A (1,7%).

Das oito cepas resistentes a duas drogas, o grupo C foi o que apresentou maior número (Tab. II). Do total de cepas resistentes 12 não foram inativadas pela isoniazida e 8 cresceram em presença da rifampicina, não tendo sido encontrado resistência à rifampicina isolada.

Nas 57 cepas obtidas de pacientes sem história de tratamento prévio, apenas uma (1,7%) apresentou resistência, enquanto 98,75% foram sensíveis. (Fig.3)

Das cepas obtidas de pacientes com tratamento prévio para tuberculose, oito (66%) apresentaram-se resistentes a pelo menos uma droga.

DISCUSSÃO

As cepas oriundas de pacientes virgens de tratamento apresentaram um percentual abaixo do relatado em estudos semelhantes em outras regiões do Brasil e do mundo. Este fato deve ser melhor avaliado na continuidade do estudo e com o aumento do número de cepas estudadas.

Os microrganismos obtidos dos pacientes com sorologia positiva para o HIV apresentaram um índice de resistência superior as cepas dos pacientes com sorologia desconhecida para o HIV, fato este já mencionado na literatura e que indica a necessidade de aumentar a vigilância neste grupo, seja através de diagnósticos mais precoces, seja por estabelecer para este grupo, teste de sensibilidade de rotina.

Os bacilos oriundos de pacientes com tratamento prévio mostraram valores percentuais compatíveis com os já, largamente, mencionados indicando a estrita relação com o abandono ao tratamento e o surgimento de cepas resistentes, possivelmente como resultado de uma seleção.

Os dados apresentados sugerem a necessidade de traçar um perfil regional da resistência às drogas usadas no tratamento da tuberculose por cepas de *Mycobacterium tuberculosis* isoladas neste local.

AGRADECIMENTOS

Ao departamento de Patologia da FURG, pelo auxílio técnico e identificação das cepas, ao departamento da Clínica

Médica e posto local da Secretaria de Saúde pelo envio de material e dados dos pacientes, a FAPERGS pelo apoio financeiro e em especial a Professora Maria do Carmo Braga Alvariza pelo apoio e incentivo no prosseguimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Ausina, V.; Riutort, N.; Viñado, B; Manterola, J.M.; Manzano, J.R.; Rodrigo, C.; Matas, L.; Giménez, M.; Tor, J. & Roca, J.** 1995. Prospective study of drug-resistant tuberculosis in a spanish urban population including patients at risk for HIV infection. *Eur. J. Clin. Microbio. Infect. Dis. 14* : 105-110.
2. **Bloom, B.R.** 1994. Tuberculosis: patogenisis, protection, and control. *ASM cap. 2*: 13-1.
3. **Bloom, B.R. & Murray, C.J.L**, 1992 Tuberculosis: commentary on a reemergant killer. *Science; 257*: 1055-1064.
4. **Canetti, G.; Rist, N. & Grosset, J.** 1963. Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions. *Revue de Tuberculose et de Pneumologie. 27.* 2-3 : 217-272.
5. **Centro de Referência Hélio Fraga.** 1992. *Controle da tuberculose.* Ministério da Saúde.
6. **Centro de Referência Prof. Hélio Fraga.** 1994. Manual de bacteriologia da tuberculose. Ministério da Saúde. 75-79.
7. **Cohn, D.L.** Treatment of multidrug-resistant tuberculosis. 1995. *Journal of Hospital Infection 30(s)* : 322-328.
8. **David H.; Frebault, V.L.; Thorel, M.F.** 1989. Méthodes de laboratoire pour mycobactériologie clinique. *Institut Pasteur. 33 - 53.*
9. **Dolin,P.J.; Raviglione, M.C. & Kochi, A.** 1994. Global tuberculosis incidence and mortality during 1990-2000. *Bulletin of the World Health Organization. 72*(2) : 213-220.
10. **Elner, J.J; Hinman, A.R; Dooley, S.W.; Fischl, M.A; Spekowitz, K.E; Goldberg, M.J; Shinnik, T.M.; Iseman, M.D. & Jacobs Jr. W.R.** 1993. Tuberculosis symposium: emerging problems and promise. *The Journal of infection diseases 168* : 537-51.
11. **Goodman y Gilman.** 1982. *Las bases farmacológicas de la terapéutica.* Sexta edición. *53* : 1176-1182. Panamericana.
12. **Grandes, G.; Lopez-De-Munain, J.; Diaz, T. & Rullan, J.** 1993.Drug-resistant tuberculosis in Puerto Rico, 1987-1990. 1993. *Am. Rev. Respir. Dis. 148* : 6-9.
13. **Hijjar, M.A. & Filho, G.G.** 1993. Aspectos epidemiológicos da tuberculose no Brasil. *Jornal de Pneumologia 19 (1)* : 4-10.
14. **Kantor, I.N.** Comisión latinoamericana de bacteriologia da tuberculosis; unión internacional contra la tuberculosis y enfermidades respiratórias (UICTER). *Boletin Informativo de Colabat. 1994.* Año 10 : 01.
15. **Kopanoffr D.E.; Kilburn, J.O.; Glassroth, J.L.; Snider, D.E.; Farer, L.S. & Good, R.C.** 1978. A Continuing survey of tuberculosis primary drug resistance in the United States: March 1975 to November 1977. *American Review of Respiratory Disease. 118*: 835-842.
16. **McKeown, T.** 1979. *The Role of medicine: dream, mirage or nemesis?* Basil Blackwell, Oxford.
17. **Melo, F.A.F.; Neto, J.I.; Seiscento, M.; Pinto, J.A. & Afiune, J.B.** 1993. Tuberculose multiresistente. *Jornal de Pneumologia. 19*(2) : 73-82.
18. **Perriëns, J.H.; Colenbunders, R.L.; Karahunga, C.; Willame, J.C.; Jeugmans, J.; Kaboto, M.; Mukadi, Y.; Pauwels, P.; Ryder, R.W. Prignot, J. & Piot, P.** 1991. Increased mortaly and tuberculosis treatment failure rate among human immunodeficiency virus (hiv) seropositive patients with pulmonary tuberculosis treated with "standard" chemotherapy in Kinshasa, Zaire. *Am. Rev. Respir. Dis. 144*: 750-755.
19. **Picon, P.D; Rizzon, C.F.C & Ott. W.P.;** Tuberculose, epidemiologia, diagnóstico e tratamento em clínica e saúde pública. 1993. *Medsi. 4*: 53-73.
20. **Rastogi, N. & McFadden, J.J.;** 1992. Mycobacteria and AIDS: epidemiological and genetic markers, virulence factors and interactions with the immune system. *Res. Microbiol. 143*, 361-436.
21. **Raviglione, M.C.; Sudre, P.; Rieder, H.L.; Spinaci,S. & Kochi, A.** 1993. Secular trends of tuberculosis in Western Europe. *Bulletin of the World Health Organization, 71* (3/4) *297*-1993.
22. **Rilley, L.W.** 1993. Drug-resistant tuberculosis. Clinical infectious diseases. *17* (Suplem. 2) : s442-6
23. **Slyers A. A. & Whitt, D.D.** 1994. Bacterial pathogenesis: a molecular approach. *ASM Press 26*:307-312.
24. **Stybo, K.** 1989. Overview and epidemiologic assessament of the current global tuberculosis situation with an emphasis on control in developing countries. *Rev. Infect. Dis. 2* (Suppl. 2): S339-S346.
25. **Telenti, A.; Imboden, P.; Marchesi, F.; Lowrie, D.; Cole, S.; Colston. M.J.; Matter, L.; Schopfer, K. & Bodmer, T.** 1993. Detection of rifampicina-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis. The Lancet* vol. *341*: 647-50.
26. **Valredzis, B.P.; Grosset, J. Kantor, I.; Crofton,J.; Laszlo, A.; Felten, M.; Raviglione, M.C. & Kochi, A.** 1994. *Tubercule and lung disease. 75*:1-7.
27. **Weis, S.E.; Slogum, P.C.; Blais, F.X.; King, B.; Nunn, M.; Matney B.; Gomes E. & Foresman, B.H.** 1994. The effect of directly observed therapy on the rates of drug resistance and relapse in tuberculosis. *The New England Journal of Medicine.* 330 (17): 1179-1183.
28. **Yáñez, A.V.** 1991. La tuberculose en la década de 1990. *Bold. of Sanit Panam 111 (5).*

Estudo comparativo entre os métodos de cultura, bacterioscopia pelo gram, contra-imunoeletroforese e teste de aglutinação em látex para o diagnóstico precoce das meningites bacterianas em amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR)

Comparative study between methods of culture, gram stain, counterimmunoelectrophoresis, latex agglutination to diagnose bacterial meningitis cerebrospinal fluid (CSF)

Isabel Cristina Rossiter Araújo Cardoso[1,2]; Maria das Graças Alves Benfica[1]; Marluce A. Assunção Oliveira[1], Chequer Buffe Chamone[1], Geraldo Leocádio Filho[1]; Maria Aparecida Ribeiro[1] & Maria Aparecida Pimenta Rocha[1]

RESUMO – Meningite bacteriana é uma infecção grave, acometendo com maior freqüência crianças de zero a doze anos e que representa um problema de Saúde Pública, principalmente em países onde as condições sócio-econômicas e sanitárias são desfavoráveis. Neste trabalho, foram selecionadas 1.250 amostras de LCR, de pacientes com suspeita de meningite bacteriana, provenientes dos hospitais conveniados com o Sistema Único de Saúde, Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais. Estas amostras foram submetidas a quatro métodos para diagnosticar os agentes *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae* tipo b, *Neisseria meningitidis* dos grupos A, B e C. Do total de amostras analisadas 13,6% foram positivas pelo teste de aglutinação em látex (170/1.250), 9,4% pela cultura (118/1.250), 9,3% pelo Gram (116/1.250) e 7,4% pela contra-imunoeletroforese (92/1.250). As análises dos resultados mostraram a aglutinação em látex como um método rápido e eficaz para o diagnóstico precoce das meningites bacterianas, demonstrando os seguintes índices de sensibilidade: aglutinação em látex 97%, cultura 69%, bacterioscopia pelo Gram 68% e contra-imunoeletroforese 54%.
PALAVRAS-CHAVE – Líquido cefalorraquidiano, teste de aglutinação em látex, contra-imunoeletroforese, cultura, coloração de Gram.

SUMMARY – Bacterial meningitis is one of the most serious diseases especially in children, from age zero until twelve years old, it is a serious Public health problem in countries where the economic, social and sanitary conditions are very poor. In this research 1.250 cerebrospinal fluid (CSF) samples from patients suspected of bacterial meningitis and under treatment in hospitals of the Sistema Único de Saúde controlled by the Health Secretary of the State of Minas Gerais were analysed by four different methods in order to determine the agents: S. pneumoniae, H. influenzae *type b and* N. meningitidis *of group A, B and C. Of the 1.250 samples examined, 170 (13.6%) were positive by the latex agglutination test, 118 (9.4%) positive by culture, 116 (9.3%) positive by gram stain, and 92 (7.36%) positive by counterimmunoelectrophoresis. It can be concluded that latex agglutination is a fast and efficient method to diagnose bacterial meningitis according to the following sensibility data: latex - 98%, culture - 69%, gram stain - 68% and C.I.E. - 54%.*
KEY WORDS – Cerrebrospinal fluid, latex agglutination test, counterimmunoelectrophoresis, culture, Gram stain.

INTRODUÇÃO

A meningite bacteriana é uma infecção grave do sistema nervoso central, que acomete principalmente crianças de zero a doze anos, representando um problema de saúde pública, em especial, nos países onde as condições sócio-econômicas e sanitárias são desfavoráveis. A meningite evolui rapidamente, resultando em morte ou seqüelas permanentes, caso não haja intervenção médica imediata e tratamento adequado.[1,4,5] Vários são os agentes etiológicos responsáveis por esta patologia, sendo que, no Estado de Minas Gerais a maior incidência é de *Haemophilus influenzae* tipo b, *Streptococcus pneumoniae* e *Neisseria meningitidis* grupos B e C. Geralmente, a sintomatologia, com febre alta, dor de cabeça intensa, vômitos, rigidez de nuca, acontece independentemente do microrganismo infectante. A porta de entrada do agente é o trato respiratório, produzindo uma nasofaringite exsudativa, podendo haver extensão com comprometimento dos seios da face ou do ouvido médio. Uma vez atingindo a corrente sangüínea e as meninges, resulta em uma bacteremia com exantema hemorrágico, coagulação casos por 100.000 habitantes (4,9). Segundo dados fornecidos pela Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde, a taxa de letalidade no Brasil, em 1988, era de aproximadamente 23%.[4] De acordo com a Secretaria de Estado da Saúde em Minas Gerais, grande número das meningites notificadas são classificadas como "etiologicamente não identificadas", sendo diagnosticadas apenas pela avaliação clínica. No período de 1990 a 1995, segundo fontes da Coordenadoria de Vigilância Epidemiológica da S.E.S/MG, foram notificados 1.523 casos de

Recebido em 04/11/96
[1]Serviços de Microbiologia e Metabolismo/Divisão de Biologia Médica/Instituto Otávio Magalhães/ Fundação Ezequiel Dias - Belo Horizonte, MG.
[2]Laboratório de Análises Clínicas - Depto. de Análises Clínicas e Toxicologia - Faculdade de Farmácia UFMG.

TABELA I
Percentuais de positividade entre os métodos utilizados

	Látex		Cultura		Gram		CIE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Positivas	170	13,6	118	9,4	116	9,3	92	7,4
Negativas	1080	86,4	1134	90,6	1132	90,7	1158	92,6
Total	1250		1250		1250		1250	

TABELA II
Índices de positividade:
agente etiológico x métodos utilizados

	Látex		Cultura		Gram		CIE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
S. pneumoniae	30	17,6	33	28	32	28	-	-
H. influenzae b	50	29,4	27	23	27	23	28	30
N. meningitidis C	54	32	32	27	31	27	42	46
N. meningitidis B	36	21	26	22	26	22	22	24
N. meningitidis A	0	-	0	-	0	-	0	-
Total de positivos	170	100	118	100	116	100	92	100

meningite bacteriana, onde, 24% (366/1523) desses, foram diagnosticados sem confirmação laboratorial.[13] Em países desenvolvidos, as estatísticas revelam índices de confirmação etiológica em torno de 90%.[4,5,6,8] No Brasil e em outros países em desenvolvimento, esses índices decrescem devido a fatores tais como: automedicação, condições sócio-econômicas e sanitárias desfavoráveis, recursos humanos com despreparo clínico-laboratorial quanto à coleta adequada, cuidados prévios de transporte das amostras até os Centros de Referência credenciados pelo Ministério da Saúde.

Objetivos – Comparar os índices de positividade entre os métodos de Cultivo Bacteriano, Bacterioscopia pelo Gram, contra-imunoeletroforese e aglutinação em látex, empregados no diagnóstico das meningites bacterianas.

Estabelecer os índices de sensibilidade, especificidade e eficiência de cada método.

Avaliar a aplicação do método de aglutinação em látex para o diagnóstico rápido e precoce das meningites bacterianas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados 1.250 amostras de líquido cefalorraquidiano de pacientes com suspeita de meningite bacteriana, provenientes dos hospitais conveniados com o Sistema Único de Saúde, Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais.

Estas amostras foram submetidas a quatro métodos para diagnosticar os agentes: *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae* tipo b e *Neisseria meningitidis* dos grupos A, B e C.

A) Cultura:

As amostras de líquor analisados neste trabalho foram enviadas de todas as Diretorias Regionais de Saúde de Minas Gerais, sendo que, a maioria destas procederam de hospitais da rede pública e particular da própria capital - Belo Horizonte.

Há aproximadamente 20 anos o serviço de Microbiologia Clínica da FUNED adotou junto ao Ministério da Saúde, um "Kit" para o transporte de LCR, tornando-o mais adequado e favorecendo a manutenção dos microrganismos patogênicos de maior interesse nas meningites bacterianas. Este "kit" é constituído de um tubo de meio agar chocolate (ACH), base Brain Heart Infusion (BHI), um tubo de meio base GC acrescido de hemoglobina 2% e fator VX e um tubo esteril.[1] Uma vez realizada a punção, o LCR é imediatamente semeado da seguinte forma:

- 3 a 6 gotas em cada tubo contendo meio ACH, GC e o restante do LCR é colocado no tubo estéril.[1]
- O material é mantido em condições de microaerofilia (5-10% de CO_2 e umidade) a 37 °C, até ser enviado ao laboratório de referência.[1]

B) Bacterioscopia pela coloração de Gram:

Técnica usual, sem modificações.

C) Contra-imunoeletroforese:

A contra-imunoeletroforese foi realizada conforme padronização do Ministério da Saúde.[1] Baseia-se na pesquisa de anticorpos solúveis no LCR, onde os polissacarídeos de *H. influenzae, N. meningitidis* apresentam carga negativa e, quando submetidos a um campo elétrico sob determinadas condições de pH e força iônica, migram em sentido contrário ao do anti-soro (anti-soros procedentes do Instituto Adolfo Lutz). Assim, ao se encontrarem, formam uma linha de precipitação que indica a positividade da reação.

D) Teste de aglutinação em látex:

O teste de aglutinação em látex, baseia-se na reação antígeno - anticorpo demonstrado em placa. As amostras de LCR devem ser coletadas logo após a confirmação da suspeita clínica. Os LCR são previamente aquecidos a 100°C por 5 minutos para liberação dos antígenos polissacarídicos de *H. influenzae, N. meningitidis* dos grupos A, B e C e *S. pneumoniae*. Estes antígenos polissacarídicos, reagem com partículas de látex sensibilizadas por anti-soros específicos (utilizaram-se Kits Slidex-Meningite, comercializados pela Bio-Merieux, França).

O tempo máximo de reação é 2 minutos e considera-se positiva a reação em que for visualizado, qualquer grau de aglutinação em um dos anti-soros utilizados.

RESULTADOS

Das 1.250 amostras de LCR analizadas, constatamos que, através do Teste de aglutinação em látex, o percentual de positividade é maior em relação aos outros métodos. Os resultados mostraram índices de: 13,6% (170/1.250) para o teste de aglutinação em látex; 9,4% (118/1.250) para a cultura; 9,3% (116/1.250) para a coloração de Gram e 7,4% (92/1.250) para a contra-imunoeletroforese (Tabela I).

TABELA III
Valores preditivos positivos e negativos

	Látex	Cultura	Gram	CIE
Verdadeiro-Positivos (VP)	170	118	116	92
Verdadeiro-Negativos (VN)	1075	1078	1082	1080
*Falso-Negativos (FN)	05	54	52	78
Total	1250	1250	1250	1250

*Incluem-se nesta categoria as amostras que sofrerem interferência de fatores tais como: uso de antibióticos anterior à coleta, erros na coleta, transporte, acondicionamento, etc. Condições capazes de levar à negatividade do teste.

TABELA IV
Estudo comparativo: sensibilidade, valores preditivos, especificidade e eficiência dos métodos

	Látex	Cultura	Gram	CIE
Sensibilidade (%)	97	69	68	54
Valor preditivo positivo e especificidade (%)	100	100	100	100
Valor preditivo negativo (%)	99	95	95	93
Eficiência (%)	99,6	95,7	95,8	93,8

A Tabela II mostra os diferentes índices de positividade por agente etiológico, quando comparado os quatro métodos em estudo. Vale ressaltar que nenhum caso de meningite bacteriana por *N. meningitidis* do grupo A foi detectado pela nossa equipe durante a elaboração deste trabalho.

A análise estatística das amostras permitiu definir a proporção de indivíduos doentes, que apresentaram resultados positivos para os métodos utilizados neste estudo, ficando estabelecida a sensibilidade destes métodos através da fórmula VP/VP + VN.[12] Os índices encontrados foram Aglutinação em látex (97%), cultura (69%), Gram (68%) e CIE (54%) mostrados nas Tabelas III e IV, são semelhantes ou maiores que os encontrados por outros autores.[3,4,5,6,9,10,15]

O Valor Preditivo Positivo (VP/VP + FP), ou seja, a probabilidade da doença após um teste positivo foi de 100% para todos os métodos utilizados. Os exames positivos foram clinicamente confirmados e estes dados estão demonstrados nas Tabelas III e IV.[12]

O Valor Preditivo Negativo (VN/FN + VN) definido nesse estudo foi 99% para o teste de Aglutinação em látex, 95% para a cultura, 95% para a bacterioscopia pelo Gram e 93% para a CIE, indicando quantos dentre os resultados negativos encontrados são verdadeiramente negativos.[12]

Finalmente, foi calculada a eficiência dos métodos em estudos para o diagnóstico das meningites bacterianas através da fórmula VP + VN/T, os índices encontrados foram: 99,6% (látex); 95,7% (cultura); 95,8% (Gram) e 93,8% (CIE) mostrados nas Tabelas III e IV. A Tabela IV resume os dados comparativos dos quatro métodos analisados.

OBS.: no método de contra-imunoeletroforese, não foi testado o anti-soro para *S. pneumoniae,* o que justifica parcialmente a redução da sensibilidade da técnica.

DISCUSSÃO

O diagnóstico laboratorial das meningites, geralmente é feito pelo cultivo e isolamento do microrganismo infectante. Entretanto, esta técnica necessita, no mínimo de 18 a 24 horas para se obter o crescimento e o isolamento do agente, prolongando ainda mais o tempo para se obter o teste de sensibilidade a drogas. É necessário profissionais habilitados, meios de cultivo que são de difícil aquisição para determinados laboratórios.[6,9,14] Para se ter um resultado positivo é necessário que o agente esteja viável, o que muitas vezes não é possível devido às más condições em que as amostras são acondicionadas e transportadas, ou pela própria ação antimicrobiana de drogas administradas anteriormente à coleta. Segundo Gray e seus colaboradores, o uso de antibióticos reduz de 10^{-2} a 10^{-6} vezes o número de bactérias nas amostras para cultivo.[9] No entanto, esta metodologia é indispensável nos estudos epidemiológicos e de resistência antimicrobiana.

A detecção de antígenos microbianos no LCR mostrou ser um método imunológico eficiente no diagnóstico precoce das meningites bacterianas. Os antígenos capsulares, polissacarídicos, liberados em grande quantidade no organismo, foram resistentes e persistiram nas amostras de LCR após vários dias do início da antibiótico-terapia, ou mesmo, quando estas foram acondicionadas e transportadas em condições indevidas, o que está evidenciado nas Tabelas I e II.

O teste de aglutinação em látex, não deve ser utilizado como substituto da cultura, pois que, o diagnóstico etiológico só será realmente confirmado mediante o isolamento do agente.[4]

A contra-imunoeletroforese e o teste de aglutinação em partículas de látex apresentaram as seguintes limitações: as amostras com títulos antigênicos muito baixos, por exemplo, as que foram coletadas nas etapas iniciais da doença, deram resultados negativos. Em contrapartida, amostras com títulos antigênicos altos podem demonstrar fenômenos de prozona, que produzem também resultados negativos. Neste último caso, para o teste de aglutinação em látex recorremos a diluições seriadas da amostra com EDTA (0,1M) ou solução salina (0,85%), e obtivemos um aumento da sensibilidade do método na detecção dos antígenos. Mesmo assim, nós obtivemos cinco resultados falso-negativos na detecção de *S. pneumoniae.* Não foram verificados possíveis reações cruzadas não sendo avaliados portanto, resultados falso-positivos, dados mostrados na Tabela III.

A bacterioscopia pelo Gram, como método rápido e de fácil execução, auxiliou de forma imediata aos testes de aglutinação em látex e contra-imunoeletroforese e direcionou os cultivos, tendo sido 99% compatível com os mesmos. Ressaltamos pois, que a associação dos métodos amplia a confirmação etiológica.[4,6,9]

CONCLUSÃO

Os nossos resultados confirmam e ampliam os obtidos por outros autores.[2,3,4,5,6,7,9,10,15] A detecção de antígenos específicos através da técnica de aglutinação em partículas de látex mostrou ser o método de maior sensibilidade (97%) e especificidade (100%) para o diagnóstico precoce das meningites bacterianas,

não sofrendo interferências significativas de fatores tais como: uso de antibiótico anterior à coleta do LCR, condições inadequadas de coleta, transporte e acondicionamento. A aglutinação em látex é uma alternativa para os laboratórios de pequeno porte do interior do Estado e também para o diagnóstico rápido das meningites nos grandes hospitais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem, em especial, à Ana Cláudia Vieira Braga, pela colaboração na digitação e diagramação deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria Nacional de Ações Básicas de Saúde, Divisão Nacional de Laboratórios de Saúde Pública. Normas Técnicas para o Diagnóstico das Meningites Bacterianas. Brasília - *Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 49* p.1986.
2. **Camargos, P.A., Almeida, M., Leocádio F.G., Chamone, C., Cardoso, I.C., Martins J.I., Silva, R.O., Batista, K.** Meningites purulentas: diagnóstico etiológico, identificação de antígenos solúveis de *H. influenzae b, S. pneumoniae* e *N. meningitidis* A e C através e do teste de Aglutinação do Látex. *In*: Congresso Brasileiro de Pediatria, XXVI, Belo Horizonte, *Anais, Comunicação Nº 376*, outubro, 1989.
3. **Camargos, P.A., Almeida, M., Leocádio F.G., Chamone, C., Cardoso, I.C., Martins, J.I. Silva, R. O., Batista, K.** Meningites purulentas: diagnóstico etiológico. Estudo comparativo entre a sensibilidade do Teste de Aglutinação em Látex, da Coloração de Gram, da Cultura e da Contra-imunoeletroforese. *In*:Congresso Brasileiro de Pediatria, XXVI, Belo Horizonte, *Anais, Comunicação Nº 375*, outubro, 1989.
4. **Camargos, P.A.M.** Doença grave, diagnóstico precoce: meningite purulenta e teste de aglutinação em partículas de Látex. Tese de Doutorado - UFMG, Belo Horizonte, setembro, 1990.
5. **Deivanayagam, N.; Ashok, T. P. Nedunchelian, K.; Shaffiahamed, S.; Mala N.** Bacterial meningitidis: Diagnosis by latex aglutination test and clinical features, Indian - *Pediatrics;* 30 (*4*): 495-500 Apr 1993.
6. **Denis, F.; Prince - David, M.; MBOUP, S.; Saulnier M.; Terrot, C.; Cadoz, M.; Chiron, J.P.; Diopmar, J.** Test d'aglutination au latex et contraimmunoélectroforèse dans le diagnostic des méningites à *H. influenzae. Pathol. - Biol; 31*(2): 97-101 Paris Feb. 1983.
7. **Denis, F.; Mounier, M.** Accroissement de la sensibilité des réactions au latex dans de diagnostic des méningites purulentes. *Pathol. - Biol; 31*, Nº 7, 589 - 591. Paris, 1983.
8. **Gold, R.** Bacterial meningitidis. *Am. J. Med., 75* (supp. 1B): 98-101 1983.
9. **Gray, D.L.; Fedorko, D.P.** Laboratory Diagnosis of Bacterial Meningitidis. *Clin. Microbiol. Rev.; 5*(2): *130-145*, Apr 1992.
10. **Ingram, D.L.; Pearson, A.W.; Occhiuti, A.R.** Detection of Bacterial Antigens in Body Fluids With the Wellcogen *H. influenzae B., S. pneumoniae* and *N. meningitidis* (A.C.Y, W135) Latex Aglutination Test. *J. Clin. - Microbiol; 18*(5): *1119 21*, nov. 1993.
11. **Jawertz, E; Melnick, J.L.** *Microbiologia Médica.* 13ª ed. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan, p. 184 - 186 and 230, 1980.
12. **Lilienfeld, A.M., Lilienfeld D.E.** *Foundations of Epidemiology* 2ª edição, p. 151, New York; Oxford, 1980.
13. Minas Gerais, Secretaria de Estado de Saúde, Diretoria Metropolitana de Saúde, Coordenadora de Epidemiologia. *Número de casos de meningite notificados por etiologia, critério, diagnóstico e óbitos.* Estado de Minas Gerais, 1990 - 1995.
14. **Pelczar M., Reid R., Chan, E.C.S.** *Microbiologia* vol. I, Editora McGraw-Hill do Brasil 1981.
15. **Requejo, H.J.Z.; Nascimento, C.M.P.C.; Fahrat, C.K.** Comparison of Counterimmunoelectrophoresis, Latex aglutination and Bacterial Culture of the diagnosis of bacterial meningitis using urine, serum and cerebrospinal fluid samples. *Brazilian J. Med. Biol. Res.; 25* (4):357-67 1992.

Informativo CRIESP

Histamina

A Histamina é uma pequena amina biologicamente ativa, com um peso molecular de 111 Daltons, formada pela descarboxilação da L-histidina. Os seus principais reservatórios corporais são os mastócitos teciduais e os basófilos sangüíneos. Ela pode, também, ser encontrada na mucosa gástrica e intestinal estando presente, livre, em vários fluidos biológicos.

Em condições fisiológicas, a histamina é um dos estimuladores da secreção de ácido pela mucosa gástrica e moduladora da produção de suco entérico. Além disso, ela é a principal mediadora das reações de hipersensibilidade. Muitas doenças alérgicas, como a asma, rinite e febre do feno, assim como as reações anafiláticas a drogas e picadas de insetos, são atribuídas à liberação de histamina dos mastócitos e basófilos. A histamina também age sobre a musculatura lisa visceral determinando contração no íleo, baço, bronquíolos e arteríolas aonde, inclusive, pode causar o colapso cardio-vascular do choque anafilático.

Mudanças nas concentrações sangüíneas de histamina podem ser resultantes de uma ampla variedade de doenças. A Leucemia Mielocítica Crônica (LMC), uma doença mieloproliferativa associada a um aumento de número de granulócitos, incluindo os basófilos, tem como forma mais extrema da doença, a Leucemia Basofílica que pode ser diferenciada das Leucemias Mielocíticas Agudas ou das Leucocitoses inespecíficas pela pronunciada elevação nos níveis de histamina.

O número de basófilos no sangue, em condições normais, é geralmente constante e possuem um tamanho entre 8 e 14 μ m e uma concentração de histamina intracelular da ordem de 1 a 2,4 picogramas/célula. O radioimunoensaio da Histamina é feito com um ensaio em fase líquida que mede a quantidade de histamina em **sangue total** e utiliza um primeiro anticorpo que compete pela histamina marcada e o da amostra (desconhecida). A separação posterior é feita por um segundo anticorpo precipitante.

Importância Clínica: investigação dos casos de hipersensibilidade aguda ou crônica, Leucemia Mielóide, com ou sem basofilia e Leucocitoses inespecíficas.

Valores de Referência: 18 a 164 ng/mL.

Material Necessário: sangue total - 5mL colhido em tubo com Heparina. Congelar para transporte.

Bibliografia: à disposição no CRIESP.

Determinação de células CD34 positivas no sangue periférico: otimização de método utilizando-se associadamente anticorpo monoclonal anti-CD14

Enumeration of CD34 positive cells in the peripheral blood: enhancement of the method through CD14 monoclonal antibody

Celso Mitsushi Massumoto, Sally Mizukami, Maria Fernanda Campos, Luciana Azevedo Gomes da Silva, Izabel Tutiya, Beatriz Beitler, Neusa Melo, Dalton Fischer Chamone & Frederico Dulley

RESUMO – Existem evidências de que as células-tronco progenitoras ("stem-cell") estão relacionadas com as células CD34 positivas, visto que as células progenitoras hematopoiéticas que crescem em cultura celular e algumas células mononucleares expressam o antígeno CD34. Considerando que a concentração das células CD34+ presentes no sangue periférico é bastante reduzida e que o tamanho destas células é semelhante ao dos linfócitos, deve-se reduzir possíveis interferências na visualização desta região, aumentando-se assim a precisão da análise. O intuito do trabalho foi o de padronizar determinação de células CD34+ empregando-se a citometria de fluxo associando-se o anticorpo monoclonal anti-CD34 com o anticorpo monoclonal anti-CD14 (monócitos). Foram avaliados 29 pacientes (10 homens e 19 mulheres). Utilizou-se a ciclofosfamida e fator de crescimento para mobilização das células-tronco periféricas. Amostras do produto de leucoaférese dos pacientes foram tratadas com solução lisante e as células lavadas três vezes com solução de tampão fosfato. A seguir foram incubadas com anticorpo monoclonal anti-CD14 ligado à fluoresceína (FITC) e anticorpo monoclonal anti-CD34 ligado à ficoeritrina (PE) por 30 min a 4°C. Após lavagens do produto, as células foram analisadas em citômetro de fluxo (FACStar, B&D). A mediana do número de células de nucleadas coletadas foi de $5,16x10^8$ cél/kg (variação 0,29-22,2) e a mediana do número de células CD34+ foi de $2,98x10^6$cél/kg (variação 0,03-18,5). O tempo médio de recuperação dos granulócitos >500/µl foi de 14 dias (variação 8-29) e plaquetas >20.000/µl foi de 28 dias (variação 12-235). Observou-se que a utilização do anticorpo monoclonal anti-CD14 pode delimitar a área correspondente aos monócitos e permite a exclusão dessas células utilizando-se dos parâmetros tamanho e granularidade. Assim, a área correspondente às células CD34+ pode ser melhor caracterizada, resultando em uma maior precisão da análise. A determinação do número absoluto de células CD34 positivas método descrito permite uma rápida decisão médica quanto ao número de leucoaféreses a serem realizadas e auxilia na estimativa da reconstituição hematopoiética dos pacientes submetidos ao Transplante Autoplástico de Medula Óssea.
PALAVRAS-CHAVE – Células progenitoras, leucoaférese, citometria de fluxo, anticorpo monoclonal.

SUMMARY – The major problem in identifying CD34+ cells in the peripheral blood is the relatively low expression of the CD34 antigen, causing difficulties in sorting CD34+ cells out of those that do not express the antigen. Monoclonal antibody CD14 has been used to identify monocytes. We standardized the enumeration of the CD34 positive cells using: CD14 conjugated with fluorescein isothiocynate (CD14/FITC) in association with CD34 conjugated with phycoerytrin (CD34/PE). Hematopoietic progenitor cells were obtained from leukapheresis performed in 29 patients who had received cyclophosphamide (60-120 mg/kg) and s.c. recombinant human-granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) for mobilization. The leukapheresis samples were incubated for 30'at 4°C with IgG_1PE and CD14/FITC for the control tube and CD34/PE and CD14/FITC for the analysis tube. After washing the cells were analises in a flow cytometer (FACStarB&D). The following four data parameters were collected in Listmode files: linear forward scatter (FSC), linear side scatter (SSC), log FITC, and log PE fluorescence. With an average of three collections for each patient, a median of $5.16 x10^8$ (range 0.29-22.22) total nucleated cells/kg containing $2.98x10^6$ (range 0.03-18.5) CD34+ cells/kg were obtained. Neutrophil count of $0.5x10^9$/L was reached a median of 14 (range 8-29) days and platelets was 28 (range 12-235) days post infusion. The enumeration of absolute CD34+ cells through this method was feasible and reproducible. It may help to make a decision about the number of apheresis that is necessary for each patient that undergo an Autologous Bone Marrow Transplantation.
KEY WORDS – Progenitor cells, flow cytometry, monoclonal antibody, leukapheresis.

INTRODUÇÃO

As células tronco-periféricas têm sido utilizadas como fonte celular para a reconstituição hematopoiética após quimioterapia mieloablativa.[5] O aumento dos procedimentos de leucoaférese, utilizados nos protocolos de transplante de medula óssea, levou ao aprimoramento das técnicas de enumeração destas células.[1]

O antígeno CD34 é de particular importância, por ser um antígeno de superfície que pode ser identificado através de anticorpos monoclonais e que se expressa em subgrupos de células incluindo a linhagem linfohematopoiética e células progenitoras.[7,11]

A análise das células CD34 positivas através da citometria de fluxo auxilia no controle de qualidade das coletas de leucoaférese, podendo assegurar que um número suficiente de progenitores seja infundido no paciente.[12]

Existem várias técnicas para a análise das células CD34 utilizando associações de anticorpos monoclonais. Uma delas inclui a utilização de anticorpo monoclonal anti-CD34 associa-

Recebido em 25/11/96
Laboratório de Criopreservação de Medula Óssea da Disciplina de Hematologia e Hemoterapia da FMUSP- Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo.

do ao anticorpo monoclonal anti-CD45 e baseia-se no reconhecimento das células CD34 dentro das células da linhagem mielóide previamente marcadas com fluorocromo.[4,10] Neste trabalho apresentamos a técnica de enumeração das células CD34 positivas utilizando concomitantemente anticorpo monoclonal anti-CD14 conjugado a fluoresceína isotiocianato (FITC) e anticorpo monoclonal anti-CD34 conjugado a ficoeritrina (PE).

MATERIAL E MÉTODO

A metodologia foi aplicada a 29 pacientes que se submeteram ao transplante autoplástico de medula óssea. A mobilização das células tronco periféricas (CTP) incluiu o uso de ciclofosfamida (60 - 120 mg/kg) associado a fator de crescimento (GM-CSF ou GCSF). As CTP foram coletadas em equipamento Vivacel (Dideco, Miranda, Itália) através do procedimento de leucoaférese, realizado geralmente em três dias consecutivos, após a contagem de células nucleadas em sangue periférico alcançar a marca de 1.000 leucócitos/mm.[3 2,9]

A análise de células CD34 foi realizada em amostras de leucoaférese, onde alíquotas correspondentes a $2x10^6$ células foram incubadas por 5 minutos em dois tubos, Falcon 12mm x 75mm, contendo solução tampão lisante de células vermelhas, denominados "NEG"e "CD34" respectivamente.

Após a incubação as células foram lavadas 3 vezes em centrífuga Beckman (Palo Alto, Califórnia, USA) A 1.600 rpm por 3 minutos. A marcação com anticorpos monoclonais foi realizada da seguinte maneira: no tubo controle adicionou-se anticorpo monoclonal anti-CD14 conjugado a FITC (Becton & Dickison, San Jose, CA, USA) simultaneamente com anticorpo controle Ig G1 conjugado a PE (Becton & Dickinson). No tubo "CD34" adicionou-se anticorpo monoclonal anti-CD14/FITC e anticorpo monoclonal anti-CD34 $HPCA_2$/PE. As células foram incubadas durante 30 minutos a 4°C, protegidas da luz.

Finalizada a incubação, as células foram lavadas 3 vezes com tampão PBS em centrífuga Beckman a 1600 rpm por 3 minutos. As células foram ressuspensas em solução tampão de PBS e analisadas em citômetro de fluxo FACstar plus (Becton Dickinson). A compensação do aparelho foi realizada com Calibre beads (Becton Dickinson). Os dados foram coletados utilizando-se os parâmetros, "foward scatter" (FSC) em escala linear, "side scatter" (SSC) linear e fluorescência FL-1/FITC e FL-2/PE em escala logarítimica.

Para análise da população celular, foi utilizado o programa lysis II, com aquisição de 48.000 eventos em cada tubo. A determinação do número de células CD34 positivas foi realizada através da análise de 48.000 eventos, sendo que os debris celulares foram eliminados pelo aumento do "thresold" e aplicação da região R1, sob a forma de polígono, esta última representando o número total de eventos, como mostra a Fig. 1A. Os eventos presentes em R1 foram considerados como número de eventos totais.

Os eventos de R1 foram então analisados para intensidade de fluorescência de CD14 em ordenada contra granularidade celular em abscissa. Os eventos correspondentes a baixa intensidade de fluorescência para CD14 e com baixa granularidade foram delimitados determinando-se a região 2(R2). Com esta estratégia conseguimos eliminar as células que expressam CD14. (Fig. 2).

Posteriormente, os eventos das regiões R1 e R2 foram analisados simultaneamente, para a intensidade de fluorescência das células controle e células marcadas com CD34/PE. Foram consideradas positivas as células com intensidade de fluorescência maior que aquela apresentada pelas células controle, observadas em um segundo histograma, considerando-se o eixo das abscissas. (Fig.3). A enumeração dos dados foi obtida através de janelas estatísticas para R1 e R2, simultaneamente. Os eventos positivos no tubo controle fora sempre inferiores a 0,3%.

A determinação do número absoluto de células coletadas a partir do número de eventos fornecidos pelo auxílio estatístico do programa Lysis II considera as seguintes variantes:

$$\frac{\text{Número de eventos positivos - Número de eventos controle}}{\text{Número de eventos totais}} = W$$

$$\text{Número de células nucleadas/ml} \times W \times \text{volume do produto} = \text{Número absoluto de células CD34 positivas}$$

RESULTADOS

A análise do produto de leucoaférese em 29 pacientes apresentou mediana de $5,16x10^8$cél/kg (variação 0,29-22,22) para o número de células totais nucleadas (Tab. I).

Quando as células de R1 foram analisadas para a fluorescência de anti-CD14/FITC x SSC, Observou-se a população de monócitos, granulócitos e linfócitos dispostas distintamente (Fig. 1A). A estratégia de delimitar regiões que excluem as células CD14 positivas, mostrou um aumento na sensibilidade do método (Figs. 1C, 2C e 3C).

A análise estatística da população de células consideradas CD34 positivas, mostrou que esta corresponde a uma mediana de 0,36% do total de células nucleadas identificadas em R1. A mediana do número absoluto de células CD34 positivas foi de $2,98 \times 10^6$ cél/Kg (variação 0,03 - 18,5).

Todos os pacientes, com exceção de um que foi a óbito 10 dias após a infusão da medula, apresentaram recuperação hematopoética com mediana de 14 dias(variação 8 - 29) e 28 dias (variação 12 - 235) para granulócitos e plaquetas, respectivamente. A recuperação hematopoiética foi avaliada pela contagem de granulócitos $\geq 500/mm^3$ por dois dias consecutivos e plaquetas $>20.000/mm^3$ sem transfusão por uma semana (Tab. II).

DISCUSSÃO

Dentro do sistema linfohematopoiético, a expressão do antígeno CD34 é restrita a aproximadamente 1,5% das células mononucleares de um aspirado de medula óssea normal e 0,1% das células do sangue periférico.[3] Portanto, torna-se difícil analisar diretamente o número de células-tronco presentes nos produtos utilizados para transplante de medula óssea.

Avanços em citometria de fluxo, com o desenvolvimento de novos equipamentos e a tecnologia na produção de diferentes fluorocromos, proporcionou a detecção de células CD34 quando a freqüência era menor que 0,5%.[6] Este fato, veio auxiliar o controle de qualidade da nossa coleta de células-tronco periféricas, juntamente com os procedimentos de contagem de células nucleadas totais e cultura de progenitores.[8]

Até o momento não conseguimos estabelecer uma correlação entre o número de células CD34 positivas e o número de células progenitoras CFU-GM que crescem em cultura. No entanto, parece que a presença de células CD34 positivas correlaciona-se com rápida recuperação hematopoiética. De acordo com Zimmerman, existe uma clara tendência entre a recuperação tardia dos granulócitos e a infusão de menos do que $0,75x10^6$ células CD34+/kg. Porém, não existe correlação entre o encurtamento do tempo e a infusão de grande quantidade de células.[13]

O procedimento de coleta de células-tronco periféricas, tem se difundido por vários centros de transplante de medula óssea, que utilizam técnicas diversas de criopreservação e controle de qualidade, impedindo a comparação dos resultados obtidos entre eles. Devido a importância da determinação do número absoluto dessas células, a Internacional Society for Experimental Hematology está propondo a padronização do método de enumeração. A metodologia sugerida foi a

TABELA I
Características clínicas dos pacientes

Nº	Paciente	Idade/Sexo	Diagnóstico	Nº de células nucl.(x10^8/kg)	Nº de células CD-34 +(x10^6/kg)
1	V.V.C.	27/F	LLA	4,26	1,25
2	I.B.A.	48/F	Ca mama	5,14	0,12
3	M.F.B.	35/M	Ca testíc.	7,84	4,35
4	M.M.S.	17/F	LLA	3,95	0,16
5	S.A.M.C.	36/M	LNH	5,93	18,5
6	R.I.S.	17/M	DH	14,28	6,12
7	M.D.C.	38/F	LNH	1,41	0,3
8	N.F.	54/M	LNH	1,74	5,37
9	A.P.S.	33/F	LNH	0,29	0,03
10	M.R.G.	41/F	Ca mama	10,24	7,6
11	T.S.	41/F	Ca mama	4,35	0,05
12	C.F.S.	17/F	DH	5,57	0,13
13	V.P.M.	19/F	LNH	3,67	3,57
14	A.B.	22/F	LMC	2,23	4,6
15	J.A.P.F.	40/M	LNH	2,76	0,2
16	M.R.C.M.	35/F	LNH	2,38	0,33
17	J.D.S.D.	56/F	Ca mama	5,17	1,35
18	R.G.	25/M	LNH	9,94	1,5
19	R.T.L.	42/F	Ca mama	19,25	11,98
20	N.C.M.	14/F	LMA	3,54	1,02
21	T.R.V.	27/F	LNH	7,06	4,51
22	M.E.S.	39/F	LNH	8,98	3,41
23	J.M.B.	50/F	MM	3,32	1,54
24	A.W.M.	36/F	Ca mama	6,0	4,56
25	M.A.P.S.	08/M	LNH	13,77	4,71
26	E.R.F.	34/M	LNH	2,61	3,17
27	A.A.S.	18/F	LNH	20,44	2,09
28	V.T.	02/M	LMA	22,22	2,79
29	F.R.G.	19/M	LMA	2,97	8,63

LMA=Leucemia Mielóide Aguda; LLA=Leucemia Linfóide Aguda; LNH=Linfoma não-Hodgkin;
MM=Mieloma Múltiplo; DH=Doença de Hodgkin.
A mediana do nº de células nucleares x 10^8cél/kg foi de 5,16 (variação 0,29 -22,22).
A mediana do nº de células CD34+x10^6/kg foi de 2,98 (variação 0,03 - 18,5).

TABELA II
Recuperação hematopoiética dos pacientes

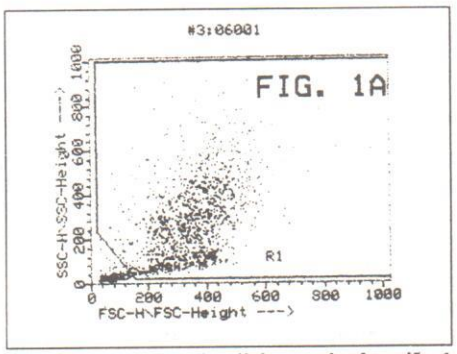
Paciente	Recuperação Granulócitos ≥500/	Recuperação Plaquetas ≥20.000
V.V.C.	+12	+15
I.B.A.	+12	+12
M.F.B.	+12	+12
M.M.S.	+17	NA
S.A.M.C.	+10	+17
R.I.S.	+12	+30
M.D.C.	+20	+54
N.F.	+11	+28
A.P.S.	NA	NA
M.R.G.	+8	+16
T.S.	+15	NA
C.F.S.	NA	NA
V.P.M.	+20	NA
A.B.	+26	+54
J.A.P.F.	+25	+235
M.R.C.M.	+29	NA
J.D.S.D.	+11	+36
R.G.	+10	+34
R.T.L.	+9	+20
N.C.M.	+13	+84
T.R.V.	+9	+27
M.E.S.	+14	+22
J.M.B.	+18	+21
A.W.M.	+11	NA
M.A.P.S.	+24	+33
E.R.F.	+14	NA
A.A.S.	+12	+19
V.T.	+13	+29
F.R.G.	+17	NA

A mediana da recuperação de granulócitos foi de 14 dias (variação 18-29). A mediana da recuperação de plaquetas foi de 28 dias (variação de 12-235).

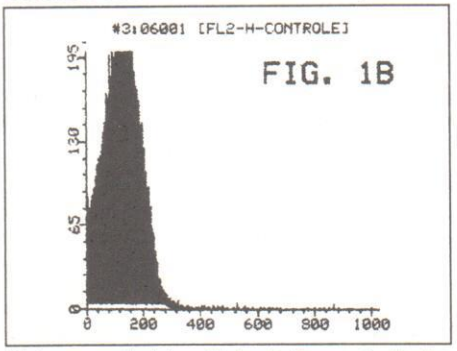
desenvolvida pelo D. Robert Sutherland[10], que utiliza associação de anticorpo monoclonal anti-CD34 com anticorpo monoclonal anti-CD45, e objetiva a determinação dentro da linhagem mielóide celular.

Na Fundação Pró-Sangue/Hemocentro, utilizamos o anticorpo monoclonal anti-CD14/FITC, associado ao anticorpo monoclonal anti-CD34/PE. Com esta estratégia conseguimos eliminar as células que expressam CD14, ou seja, monócitos que poderiam interferir na análise das células CD34 positivas. A metodologia mostrou-se reprodutível e sensível para determinar o número absoluto de células CD34 positivas, e também para eliminar a população de células que poderiam interferir nesta determinação.

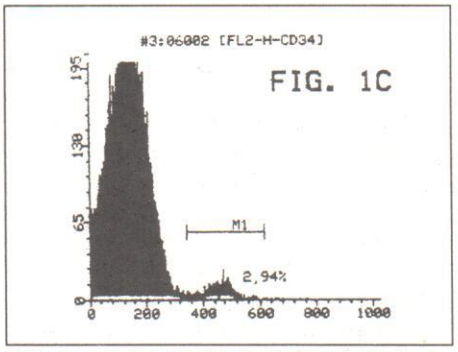
FIGURAS
Análise dos 48.000 eventos adquiridos



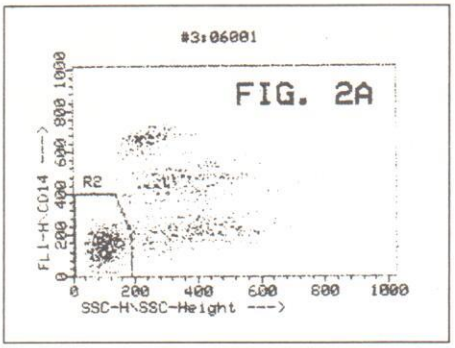
Dot-plot do número de células totais. A região 1 determinada exclui os debris celulares.



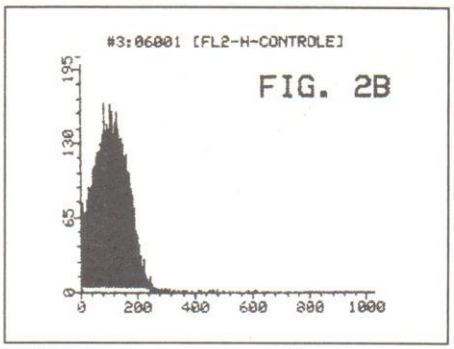
Histograma da intensidade de fluorescência das células controle em R1.



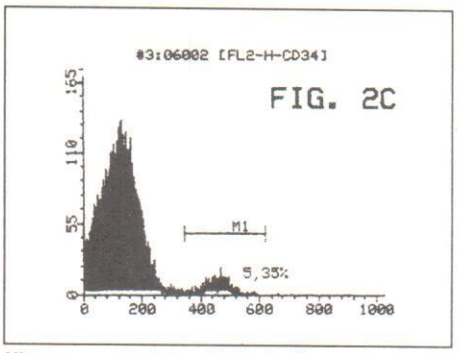
Histograma de intensidade de fluorescência das células marcadas com anti-CD34/PE em R1.



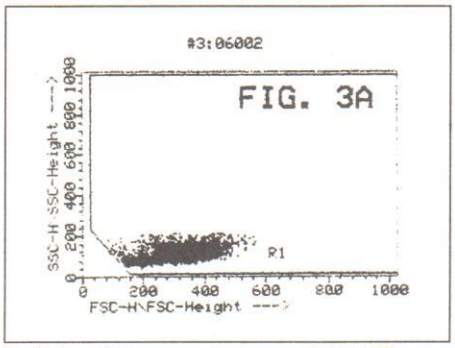
Análise dos eventos de R1 para intensidade de fluorescência de CD14. A região 2 determina células com baixa granularidade e negativas para fluorescência de CD14.



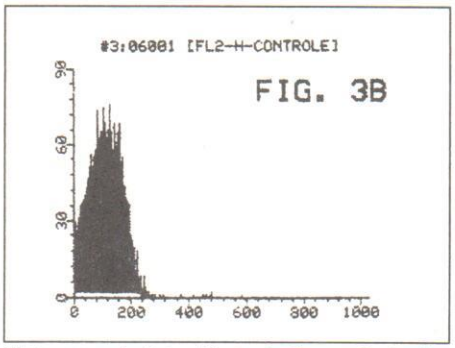
Histograma da intensidade de fluorescência das células controle em R2.



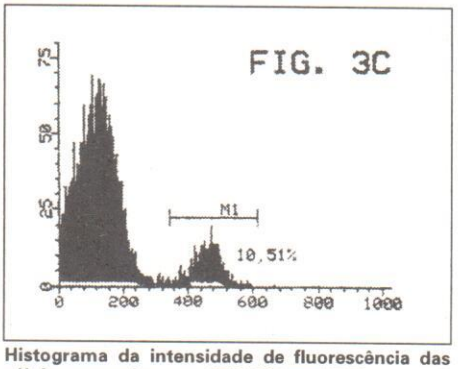
Histograma da intensidade de fluorescência das células marcadas com anti-CD34/PE em R2.



Perfil das células marcadas com anti-CD34PE quando aplicada a associação de R1 e R2 (R1R2).



Histograma da intensidade de fluorescência das células controle em R1R2.



Histograma da intensidade de fluorescência das células marcadas com CD34/PE em R1R2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Andrews R.G., Bryant E.M., Bartelmez S.H., Muirhead D.T., Knitter G.H., Bensinger W., Strong D.M., Bernstein I.D.** CD34+ marrow cells, devoid of T and B lymphocytes reconstitute stable lymphopoiesis and myelopoiesis in lethaly irradiated baboons. *Blood, 80*: 1693, 1992.
2. **Bensinger W., Singer., Appelbaum F., Lilleby K., *et al.*** Autologous transplantation with peripheral blood mononuclear cells colected after administration of recombinant granulocyte stimulating factor. *Blood, 81* (11), 3158-3163, 1993.
3. **Champagne M.A., Fackler M.I. e Civin C.I.** Use of purified stem cell and progenitor cells for transplantation. *In:* **Atkinson K.** *Clinical Bone Marrow Transplantation: a reference textbook.* (ed) Sidney, Australia. St. Vincent's Hospital, 631, 1994.
4. **Chen C.H., Lin W.,Shye S., Kibler R., Grenier K., *et. al.*:** Automated enumeration of CD34+ cells in peripheral blood and bone marrow. *Journal of Hematotherapy 3*:3, 1994.
5. **Civin C.I. Strauss L.C., Brovall C., Fackler M.J., Schuartz J. F., Shaper J.H.**: Antigenic analysis of hematopoiesis III. A hematopoetic cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells. *J.Immunol. 133*, 157-65, 1984.
6. **Civin C.I., Banquerigo M.L., Strauss L.C. and Loken M.R.**: Antigenic analysys of hematopoiesis VI. Flow Cytometric characterization of My-10 positive progenitor cells in normal human bone marrow. *Exp. Hematol., 15, 10*, 1987.
7. **Civin C.I., Trischman T., Fackler M.J., Bernstein I., Buhring H., Campos L., Greaves M.F., Kamoun M., Katz D., Landsdorp P., Look T., Seed B., Sutherland D.R., Tindle R., Uchanska Z.B.**: Summary of CD34 cluster workshop section *In:* **W. Knapp *et al* (eds)** *Leucocyte Typing IV.* Oxford : Oxford University Press, 818, 1989.
8. **Krause D.S., Fackler M.J., Civin C.I. & May W.S.**: CD34: Structure, Biology and clinical utility. *Blood, 81 (1)*, 1-13, 1996.
9. **Siena S., Bregni M., Brando B., Ravagnani F., Bonadonna G. and Gianni A.M.**: Circulation of CD34+ hematopoietic stem cells in the peripheral blood of high-dose cyclophosphamide-treated patients: enhancement by intravenous recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor *Blood 74* (6), 1905-1914, 1989.
10. **Sutherland D.R., Keating A. , Nayar R., Anania S., Stewart A.K.**: Sensitive detection and enumeration of CD34+ cells in peripheral and cord blood by flow cytometry. *Experimental Haematology, 22*: 1.003 - 1.010, 1994.
11. **Sutherland D.R., Keating A.**: The CD34 antigen structure, biology and potential clinical application. *J. Hematotherapy, 1*:115.
12. **Trichmann T.M., Schepers K.G., Civin C.I.**: Mesurement of CD34+ cellIls in bone marrow by flow citometry. *J. Hematotherapy, 2*:305, 1993.
13. **Zimmerman T.M., Lee W.J., Bender J.G., Mick R., Williams S.F.** Quantitative CD34 analysis may be used to guide peripheral blood stem cell harvests. *Bone Marrow Transplantation, 9*: 439-444, 1995.

Endereço para correspondência:
Celso Mitsushi Massumoto
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155 - 1º andar - Bloco 4
Sala 53 - Cerqueira César - São Paulo - SP
CEP 05403-000

XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE ANÁLISES CLÍNICAS

25 a 29 de Maio de 1997
Centro de Convenções Edson Queiroz
Fortaleza, CE

TEMAS LIVRES

1

" COLETA DIRECIONADA PELO ÁCIDO ACÉTICO E SUAS INFLUÊNCIAS NA CITOLOGIA ONCOPARASITÁRIA "

RODRIGUES, A.M. ; SILVA W.G. ; TUMA, U. ; RABELO, S. R. ; NUNES, E. ; RIBEIRO, W. R.

A citologia oncoparasitária é o método diagnóstico mais utilizado nos SCREENNING populacionais para detecção de doenças cervicais, apesar dos índices de falso negativo dessa técnica, serem consideráveis. Esse fato justificou a busca de novos adjuvantes com o intuito de diminuir os referidos índices. Para tal fim foi implantada a lavagem cervical com o ácido acético.

Nesse estudo os autores procuram demonstrar as vantagens de realizar coleta cérvico vaginal direcionada após a aplicação de ácido acético a 4,0%, verificando que houve aumento dos achados citológicos anormais nos esfregaços obtidos após a aplicação do ácido quando comparados com aqueles obtidos antes da referida aplicação. Quanto a qualidade dos esfregaços feitos após a lavagem cervical com o ácido acético, foi observado que não houve inviabilização da interpretação dos esfregaços, apesar da diminuição da flora bacteriana, lise de hemácias e redução na representação celular.

2

CITOLOGIA GINECOLÓGICA FUNCIONAL: ABORDAGEM AO ENSINO NA FORMAÇÃO DO FARMACÊUTICO-BIOQUÍMICO.*

Linda Emiko Suzuki** Mary Mayumi Taguti Irie***

O presente estudo baseou-se no projeto de ensino no qual 18 acadêmicos do curso de Farmácia-bioquímica da Universidade Estadual de Maringá participaram executando técnicas citológicas no acompanhamento do ciclo menstrual e o seu diagnóstico. Além do adestramento técnico e de diagnose o projeto também teve como objetivo, a obtenção de material didático de ciclos completos em lâminas permanentes que não estão disponíveis no mercado.

Participaram do projeto 53 doadoras das quais obteve - se 37 ciclos completos de 30 doadoras para serem utilizados em aula prática de microscopia ótica.

Quanto ao trofismo foram obtidas 17 curvas normotróficas, 18 hipotróficas e 2 hipertróficas. Trinta curvas foram do tipo cíclico e 7 acíclico. Em relação à ocorrência de ovulação, obteve-se 13 curvas ovulatórias, 14 não ovulatórias, 2 provavelmente ovulatórias e 8 doadoras faziam uso de anticoncepcional hormonal. Houve 2 casos de ovários policísticos e 1 com suspeita de insuficiência luteínica.

*Executado no Laboratório de Citologia Clínica da UEM.
Av. Colombo 3590 87020-900 Maringá Paraná
**Profª Adjunto de Citologia Clínica - UEM.
***Farmacêutica-bioquímica de LEPAC - UEM.

3

Aspectos citológicos da infecção Ginicologica pelo papilomavírus humano. A.C.M. Saraiva, V.G.A Neri; Laboratório de citologia do Dept.º de Análise clínicas e toxiconologicas, Natal-RN Brasil.

Este trabalho tem como base o estudo do papilomavírus humano, agente causador do condiloma acuminado, sendo uma infecção causada por um DNA vírus, com incidência significativa no mundo ocidental. Este estudo tem como objetivo primordial analisar as alterações citológicas presentes em esfregaços de portadoras do HPV, bem como determinar a incidência desta virose no serviço de citologia do departamento de análise clínicas e toxicológicas (DACT). De acordo com os dados obtidos através de fichas de anamnese e laudo citológico, utilizando a coloração papanicolau dentre as 302 pacientes (100%) atendidas no serviço de citologia do DACT, 40 casos (13,2%) foram positivas para infecção HPV, onde a maior incidência esteve entre as pacientes com faixa etária de 21 a 30 anos, correspondendo a 17 casos (42,5%). Entre as 40 pacientes positivas, 29 delas (72,5%) tiveram partos normais e as principais alterações celulares observadas foram coilocitose com 29 casos (31,5%), disqueatose com 19 casos (20,7%) e anfofilia com 19 casos (20,7%). A neoplasia intraepitelial cervical (NIC I) foi a que se apresentou mais associada a infecção pelo HPV com 11 casos (61,1%), estando mais relacionados com os agentes infecciosos específicos trichomonas vaginalis com 11 casos (25,0%) e clamydia trachomatis com 11 casos (25,0%) e inespecíficos como flora mista com 14 casos (31,8%).

4

ESTUDO RETROSPECTIVO DA INCIDÊNCIA DE VULVOVAGINITES, CERVICITES E NEOPLASIAS INTRA-EPITELIAIS EM MULHERES ATENDIDAS PELOS SERVIÇOS DE PREVENÇÃO DE CÂNCER GINECOLÓGICO E DE MAMA NO MUNICIPIO DE ARACATI-CE. Francisca Janaina Soares Rocha, Geanne Matos A. Cunha. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará.

As vulvovaginites e cervicites são achados de elevada frequência na clínica ginecológica e obstétrica, embora não constituam na maioria das vezes patologias graves, são responsáveis por constantes queixas de desconforto na mulher. Neste trabalho, apresentamos um estudo epidemiológico das vulvovaginites, cervicites e neoplasias intra-epiteliais(NIC), em mulheres que foram atendidas pelo Serviço de Ginecologia do Hospital Municipal de Aracati e Centro de Saúde do Município, no período de janeiro a dezembro de 1996. O estudo foi realizado a partir da consulta de laudos citológicos avaliados por equipe especializada no Laboratório de Citopatologia do Instituto de Prevenção de Câncer do Estado do Ceará (IPCC). Através deste estudo demonstramos que a incidência de vulvovaginites e cervicites foi bastante elevada(88,78%), ao contrario da incidência de lesões intra-epiteliais(0,72%). Esfregaços atróficos(3,82%), citolíticos(3,39%) e purulentos(3,29%) também foram analisados. Os microagentes mais frequentemente encontrados nos exames citopatológicos foram: Bacilos de Döederlein(21,96%), flora mista(38,38%), flora cocóide(12,69%), Gardnerella vaginalis(17,20%) Chlamydia trachomatis(0,20%), fungos (2,39%), HPV(0,30%), Mobiluncus(0,03%), Trichomonas vaginalis(3,19%), Gardnerella e Trichomonas(1,08%), Trichomonas e cocóides(1,51%), Gardnerella e fungos(0,13%). Conclui-se que apesar da incidência de vulvovaginites e cervicites na população estudada ser considerada alta, o índice baixo de neoplasias intra-epiteliais resulte dos esforços que têm sido empregados nas áreas preventiva e terapêutica.

5

Doenças Sexualmente Transmissíveis detectadas em exames citológicos para prevenção do câncer do colo uterino

Edna Talarico Rodrigues
Laboratório Carajás - Parauapebas - PA
Rua D, 236 - 68515-000 tel.: (091) 346-1253

De um estudo de 4.111 mulheres foram selecionadas 586 que estavam com suas fichas adequadamente preenchidas, segundo um questionário em que se perguntava se usariam preservativos se eles estivessem disponíveis e qual era o nível de confiança que elas tinham em seus parceiros.

Foram feitos os exames: direto, a fresco, bacterioscopia, prevenção do câncer, DST e HIV/AIDS.

	Carentes (prefeitura)		outras	
	Sem DST: 36%	Com DST: 64%	Sem DST: 49%	Com DST: 51%
Usariam preservativos				
Sim ele/ele não	21%	10%	21%	24%
Sim ela/ele não	22%	27%	22%	16%
Os dois	13%	10%	13%	9%
Nenhum dos dois	30%	37%	30%	39%
Não responderam	14%	16%	14%	12%
Confiança nos parceiros (Notas 0, 5, 10)				
Parceiro infiel	3%	7%	3%	5%
Desconfiam	44%	32%	29%	39%
Confiça total	37%	40%	29%	33%
Não responderam	16%	21%	39%	23%
DST detectados em citologia oncótica/bacterioscopia/direto				
Gardnerella vaginalis		1%		-
Leptotrix vaginalis		1%		1%
Leveduras		48%		49%
Torulopsis glabrata		1%		1%
Trichomonas vaginalis		15%		9%
Sugere Clamidos		9%		13%
Sugere Herpes		8%		7%
Sugere Neisseria gonorrhoes		4%		5%
Sugere PAP-vírus		13%		13%

6

UTILIZAÇÃO DO MÉTODO DA PRIMEIRA DERIVADA PARA DETERMINAÇÃO DA HEMOGLOBINA PLASMÁTICA NO CONTROLE DE QUALIDADE EM BANCO DE SANGUE

Autores: Haddad, R.; Faggioni, L.P.C.; Zago, M.A.; Covas, D.T.
Hemocentro de Ribeirão Preto - São Paulo - Brasil

Introdução: A importância da hemoglobina plasmática dentro do serviço de Banco de Sangue é dada pela necessidade de detectar qualquer tipo de reação hemolítica e determinar a eficácia do controle de qualidade das bolsas estocadas. Atualmente a dificuldade encontrada é o longo tempo despendido para determinação da concentração de hemoglobina plasmática pelos métodos convencionais da Benzidina e Orto-Toluidina que utilizam reagentes carcinogênicos. Diante do exposto, temos como objetivo determinar a concentração da hemoglobina plasmática pelo método da primeira derivada e com isso, analisar o grau de hemólise nas bolsas de concentrado de hemácias para o controle de qualidade.

Materiais e métodos: Foram analisadas 109 amostras de plasma obtidas a partir de bolsas de concentrados de hemácias com anticoagulante citrato fosfato dextrose e adenina (CPDA-1) da Baxter Hospitalar Ltda. As amostras foram colhidas em tubos 12x75, centrifugadas a 350g e a leitura foi realizada por espectrofotometria em 570/582 nm no espectrofotômetro 1201 (Milton Roy Company, Rochester, N.Y.). Os cálculos da derivada foram analisados pelo programa μ Quant Software Versão 2.12 a partir da absorbância obtida.

Resultados: Foram analisados plasmas de bolsas com 1 dia (n=58), 15 dias (n=40) e 35 dias (n=11) de estocagem. A média da concentração de hemoglina livre encontrada foi de 17,44 mg/dl ± 7,08; 72,74 mg/dl ± 45.41; 224,64 mg/dl ± 128,46 respectivamente. Estes resultados permitiram a avaliação do grau de hemólise que apresentou média de 0.025% ± 0.01, no dia 1; 0.08% ± 0.05, no dia 15; 0.27% ± 0.14, no dia 35.

Discussão: A concentração de hemoglobina livre apresentou desvio padrão alto, devido à quantidade variável de plasma nas bolsas, além da solução anticoagulante preservante, fatores estes necessários para manutenção da integridade das hemácias. Com isso, foram obtidos valores variáveis no hematócrito e na quantidade de hemoglobina total, resultados importantes para a determinação do grau de hemólise. Os valores obtidos para o grau de hemólise estão dentro dos padrões estabelecidos pela American Association of Blood Banks (AABB) que sugerem um grau de hemólise < 0,8%, no último dia de estocagem. O teste mostrou-se linear (r=0.999) entre as concentrações de hemoglobina livre de 0 a 60 mg/dl. Este método mostrou ser simples, rápido, confiável e reprodutível, além de não utilizar reagentes carcinogênicos.

Apoio financeiro: FUNDHERP.

7

Prolactina : Padronização de valores de referência adaptados à nossa população e análises comparativas com diferentes metodologias.

Borges, L. F. D. Oliveira,C.S. Morgado,P.S. Paula,M.

Laboratório Lâmina Ltda (Setor de Hormônios)
Rua 19 de Fevereiro, 69 - Botafogo Rio de Janeiro cep: 22280-030

Especialidade: 99 (Endocrinologia)

Resumo:

A prolactina pode estar aumentada em diferentes situações fisiológicas ou patológicas quando valores persistentemente elevados podem estar associados à tumores hipofisários (macroprolactinomas ou microadenomas).

A hiperprolactinemia geralmente resulta em galactorréia, amenorréia e infertilidade. Nos homens tem ação inibidora da espermatogênese, podendo levar à diminuição da libido, impotência e ginecomastia.

A maioria dos métodos existentes apresentam valores de referência até 25 ng/ ml. Em nossos estudos, a análise quantitativa para a determinação sérica de níveis de prolactina, utilizando a metodologia de Quimioluminescência, demonstrou valores acima de 26 ng/ ml, pré-estabelecido pelo fabricante. Assim, seguindo recomendação do kit para que cada laboratório estabeleça seu próprio valor de referência em concordância com a variabilidade encontrada em cada população, padronizamos em nosso laboratório os valores referentes ao teste de prolactina, analisando 2000 amostras sorológicas e constatando que 1513 (75.65%) apresentaram níveis na faixa entre 1.8 a 30.0 ng/ml ; 14 (0,7%) entre 0,07 e1,80ng/ml; 130 (6,5%) entre 30,0 e 36,09ng/ml ; 242 (12,1%) entre 36,09 e 72,11ng/ml ; 52 (2,6%) entre 72,11 e 108,13ng/ml e 49 (2,45%) entre 108,13 e 576ng/ml.

200 amostras sorológicas foram testadas em análise comparativa com as metodologias de Quimioluminescência, Raioimunoensaio, e ELFA, encontrando-se concordância em 98% dos resultados.

Fonte financiadora : Laboratório Lâmina Ltda.
Dircia de Fátima Dantas Borges

Agradecimentos: Biolab-Mérieux e Análise.

8

" Controle de Qualidade em Gasometria"

Autores: Iara Turrin
Carlos A.C. Sannazzaro
Luciana Oliveira Basso
Marilice Friedrich

RESUMO:

Aos resultados das observações das soluções de pH, PO_2 e PCO_2, em três níveis de concentração, realizadas no analisador de gases e eletrólitos Stat Profile Ultra, foi aplicado o procedimento controle de regras múltiplas (1:3s/2 em 3:2s/R:4s/3:1s). Posteriormente foi avaliado o desempenho deste procedimento controle quanto a rejeição de resultados observados, em comparação com o índice de rejeição resultante à aplicação da regra única 1:2s.

Os autores, frente aos resultados obtidos, concluiram que: o procedimento controle de regras múltiplas reduz a probabilidade de falsas rejeições.

* Trabalho realizado no Laboratório Clínico do Hospital Universitário - USP

9

AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE POSITIVIDADE DO EXAME DE FEZES ATRAVÉS DE AMOSTRAGEM ESTRATIFICADA.

Nislene Freire
Salomão M. D. Ferreira, C.Q.E. e C.Q.A., A.S.Q.C.
Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Márcio Cunha
Fundação São Francisco Xavier - Ipatinga - MG

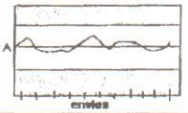
Habitualmente o exame parasitológico de fezes (EPF) é utilizado como indicador isolado do desempenho e da qualidade do Laboratório de Patologia Clínica.A aplicação acritica por parte dos médicos, de dados de literatura e a idéia geral de que a maioria absoluta das pessoas é portadora de parasitoses, comumente aceita pelos pacientes, são fontes de julgamentos precipitados e infundados do Laboratório como um todo.Através da análise dos resultados de 1.482 exames parasitológicos de fezes realizados no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Márcio Cunha (HMC), foi determinada a taxa de positividade de 21,45% e pela aplicação de uma técnica de amostragem estratificada, buscou-se relacionar e consubstanciar esta taxa com o tipo de clientela atendida por aquela instituição. Os subgrupos apresentaram os seguintes resultados: Exames Periódicos de saúde de funcionários do grupo Usiminas: 22,97%; Pacientes ambulatoriais atendidos no HMC: 20,55%; Pacientes Internados no HMC: 23,68%; e exames Admissionais do grupo Usiminas: 27,36%. A aplicação do teste do qui-quadrado aos resultados mostrou não haver diferença significativa entre eles.Como conclusão, definiu-se que a taxa de positividade para os EPF deve ser determinada para cada Laboratório, considerando seu tipo predominante de clientela.

10

Resultados de esquema de control de Calidad Externo de UK y PELM realizado en los Lab. Cerpe.

Dr. Antonio Claro, Dra. Renildes Fernandez, Dra. Ana Cristina Olivera, Dra. Angela Damaso, Dr. Sergio Vital, Dra. MarleneArsujo.
Laboratorios Cerpe, Recife, PE.

Se muestran los resultados obtenidos en el Lab. Cerpe del Control de calidad externo internacional del Reino Unido (NEQAS) y de la PELM, de los laboratorios de Bioquimica, Hematologia, Radioinmunoensayo, Inmunologia y Microbiologia. El esquema de entrega de la NEQAS para Bioquimica es de cada 6 meses, enviando sueros liofilizados con la fecha de entrega de los resultados, para Hematologia el envio es bimensual, con analisis de parasitos sanguineos, estudios de laminas de pacientes con enfermedades hematologicas y los parametros sanguineos para los equipos automatizados, para RIA e Inmunologia el envio del material es fraccionado y siguiendo un esquema de recepción y entrega, para el NEQAS no tenemos control de calidad en Microbiologia. El envio del material de la PELM es mensual, para todos lo laboratorios antes señalados, incluyendo cuestionarios de educación continuada para las diferentes areas, asi como para la calidad del agua y de los equipamientos.
Durante el año analizado encontramos que tanto para el control de calidad externo internacional, como el nacional, el laboratorio obuvo un magnifico performance. Se demuestra que el BIS del laboratorio como un todo esta por debajo de un 100% lo cual demuestra un"buen control". En la fig. se demuestra el performance total del laboratorio que esta dentro del rango (A) de aceptable. La NEQAS realiza 11 envio mensuales. En nuestro analisis, consideramos que la forma de expresar los resultados de la NEQAS es mucho mas facil de interpretación, ademas permite el analisis de diferentes metodos y firmas comerciales.



11

OCORRÊNCIA DE *Ascaris lumbricoides* EM PACIENTES ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, COMPARANDO O MÉTODO DE RITCHIE COM O MÉTODO DE HOFFMANN, PONS E JANER.

Cantos, G.A[1]; Lima, L. M[1].; Coelho, M.M[2]; Delgado, R.C[3].; Silva, C[3]. e Machado, V.[3]
([1]Prof.do Depto de Análises Clínicas, UFSC; [2]Farmacêutica-Bioquímica do Hospital Universitário, UFSC; [3]Aluna do Curso de Farmácia-Bioquímica, opcão Análises Clínicas, UFSC).
Correspondência: FAX: (048)231-9542

O *A.lumbricoides* é um parasita cosmopolita, sendo encontrado principalmente em crianças, causando severas patogenias ao homem. No presente trabalho foi verificado a ocorrência desse helminto em nosso meio e ao mesmo tempo foi realizado um estudo comparativo entre o método de centrifugo-sedimentação pelo sistema formalina-éter (Ritchie) e o de sedimentação espontânea (Hoffmann, Pons e Janer). Os resultados mostraram que o grau de parasitismo de nossos pacientes foi de 29,5%. Desses, 27,7% foram parasitados por *A.lumbricoides* e 72,3% apresentaram parasitismo ocasionados por outros enteroparasitas. Observou-se uma maior ocorrência de *A.lumbricoides* na faixa etária entre 0-12 anos, sendo que as diferenças encontradas no sexo masculino e feminino não foram significativas. Concluímos ainda, que tanto o método de Ritchie quanto o método de Hoffmann e cols. são necessários para o diagnóstico das enteroparasitoses, embora o segundo contribua de maneira mais precisa para o diagnóstico do *A.lumbricoides*.

12

PARASITOSES INTESTINAIS ENTRE CRIANÇAS DE CRECHES DO MUNICÍPIO DE ALFENAS , MG

SIQUEIRA, R.V.; SILVA, A.C. & BRAGA,M.
Departamento de Análises Clínicas
Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714 - 37130.000- Alfenas - MG

Este estudo teve como objetivo verificar o ocorrência de enteroparasitas entre crianças de 6 meses a 6 anos de idade, matriculadas em quatro creches do município de Alfenas, MG , nos anos de 1993 e 1994. Dentre 622 crianças, 439 foram submetidas à exames coproparasitológicos pelos métodos de Hoffman, Ritchie e Faust. De 221 (50,34%) crianças parasitadas, 167 (75,57%) apresentaram apenas uma espécie parasitária, enquanto que em 54 (24,43%) houve associação de duas ou mais espécies. O elevado Índice de positividade , verificado na população estudada, vem demonstrar a necessidade de implantar medidas educativas para pais e responsáveis pelas crianças, na tentativa de minimizar os transtornos decorrentes dessas doenças.

13

ESTUDO DA METODOLOGIA APLICADA AO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA ANCILOSTOMOSE NUMA DETERMINADA POPULAÇÃO NAS CIDADES DE CUIABÁ E VÁRZEA GRANDE - MT.

N. Rigolin
Dpto de Farmácia e Bioquímica - UNIC - Cuiabá - MT

Com a finalidade de estabelecer a prevalência e a metodologia aplicada no diagnóstico laboratorial da ancilostomose, o autor fez o levantamento de dados nos livros de registro de exames parasitológicos das fezes (EPF) nos laboratórios da rede pública em Cuiabá e Várzea Grande, MT e no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade de Cuiabá - UNIC, no período de janeiro a junho de 1995. Com um total de 7359 amostras fecais examinadas, assim distribuídas por laboratórios: Laboratório de Análises Clínicas da Universidade de Cuiabá - LAC UNIC, foram examinadas 1042 amostras, 44 foram positivas para ancilostomídeos, correspondendo a 4,3% do toal e 9,8% dos exames positivos. Na policlínica do Verdão - cuiabá, em 2453 amostras examinadas, 13 foram positivas para ancilostomídeos, correspondendo a 0,5% do total e 1,0% dos exames positivos. Na policlínica do Cristo Rei - Várzea Grande, das 948 amostras examinadas, 6 positivas para ancilostomídeos, correspondendo a 0,6% do total e 1,3% dos exames positivos. No diagnóstico laboratorial das endoparasitoses foi empregado, nos laboratórios da rede pública, apenas o método Hpffman, pons e Janer (HPJ) ou método de sedimentação e no LAC/UNIC foram empregados além do HPJ mais outros três métodos (Willis, Faust e Rugai). Com este trabalho, o autor demonstrou que para o diagnóstico laboratorial da ancilostomose, há necessidade de usar metodologia adequada nos exames parasitológicos das fezes.

APOIO: UNIC

14

ESTUDO DO DIAGNÓSTICO E TERAPÊUTICA DAS PARASITOSES INTESTINAIS.

*Gadelha Silva, A.A.;** Ferreira, A.C.;** do Nascimento, E.B.;** de Freitas, A.R.P.; **Santos, O.D.M. e a colaboradora Lins Ghersman, M.F.de A..
Laboratório de Parasitologia Clínica - Departamento de Farmácia U.F.PE..

Levando em consideração uma das problemáticas da cidade do Recife , que são as parasitoses intestinais, muito comum em crianças que residem em favelas com condição sócio-econômica baixa, sem saneamento básico e com desnutrição, a disciplina de Parasitologia Clínica realizou um estudo diagnóstico-terapêutico em crianças com faixa etária de 9 meses a 14 anos na Clínica GURI (Grupo Universitário de Reabilitação Infantil) Afogados, Recife.

Foram realizadas três coletas para cada criança, em dias intercalados, num total de setenta e cinco amostras. O objetivo deste trabalho foi diagnosticar parasitoses intestinais nos meses de verão e verificar a eficácia do tratamento empregado. O método utilizado foi o de Hoffmann, técnica mais utilizada na rotina laboratorial por ser eficaz, de fácil preparação e detectar todas espécies de parasitos. O material fecal foi conservado em MIFc, líquido conservador empregado nos inquéritos parasitológicos. No tratamento para helmintos foi utilizado o Mebendazol e para protozoários, a ser administrado, o Giamebil.

Os resultados obtidos foram os seguintes: Giardíase 80%, Amebíase 65,3%, Ascaridíase 9,3%, Tricuríase 2,6%, Enterobíase 2,6% e 2,6% negativos. Estes mostram que houve uma maior incidência de infecção por protozoários intestinais nos meses de verão (Outubro, Novembro e Dezembro).

Este trabalho foi realizado pela professora e quatro alunos da Disciplina de Parasitologia Clínica da Faculdade de Farmácia da UFPE.

* Professora
** Participantes

15

DETECÇÃO DE COPROANTÍGENOS DE *Giardia lamblia* EM FEZES HUMANAS, UTILIZANDO O "PROSPECT *Giardia* ENSAIO EM MICROPLACA"

Rocha, M.O., Mello, R.T., Guimarães, T.M.P.D., Toledo, V.P.C.P., Costa, C.A. da & Pereira, J.Z.N.
Dept° Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais / Av. Olegário Maciel, 2360 - Belo Horizonte, MG.

O "ProSpect *Giardia* Ensaio em Microplaca" (Biobrás/Alexon Inc) é um ensaio imunoenzimático que utiliza anticorpo monoclonal para a detecção de antígenos específicos da *G. lamblia* (GSA 65) nas fezes, podendo ser lido visualmente ou em espectofotômetro (ROSOFF et al., *J. Clin. Microbiol.*, 27: 1977-2002). Este foi testado nos Estados Unidos da América (ROSOFF et al., *J. Clin. Microbiol.*,27:1977-2002), cujas condições diferem enormemente, especialmente no que diz respeito às parasitoses intestinais. No presente trabalho foi feita uma avaliação do "ProSpect *Giardia* Ensaio em Microplaca", utilizando amostras fecais de pacientes de Belo Horizonte, MG. As fezes de cada paciente foram examinadas pelo método da centrifugação em éter sulfúrico (BLAGG et al., 1955, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 4:23-28), para a pesquisa de parasitos intestinais. Os pacientes foram considerados negativos para *G. lamblia* quando 3 amostras de fezes, colhidas em dias alternados, não apresentaram cistos ou trofozoítos do parasito. Um total de 78 amostras fecais foram testadas (30 positivas e 48 negativas para *G. lamblia*), primeiramente como fezes frescas e, então, preservadas em formalina 10%, para um novo teste 2 meses após. Com as amostras frescas, o ensaio imunoenzimático foi capaz de identificar todos os 30 pacientes positivos no exame parasitológico de fezes(EPF) e foi negativo em 47 dos 48 pacientes sem *G. lamblia* (sensibilidade = 100%, especificidade = 98%). Com as amostras preservadas em formalina 10% durante 2 meses, o "ProSpect *Giardia* Ensaio em Microplaca" identificou 27 das 30 amostras fecais positivas (sensibilidade = 97%) e foi negativo nas 48 amostras negativas no EPF(especificidade = 100%). O "ProSpect *Giardia* Ensaio em Microplaca" mostrou-se uma boa alternativa para o diagnóstico da giardíase uma vez que antígenos solúveis podem ser detectados em uma única amostra de fezes. A melhor performance foi obtida com fezes sem conservador.Um terceiro grupo, constituído de amostras fecais negativas para *G. lamblia*, mas positivas para outros parasitos intestinais está sendo testado. Nenhuma das 18 amostras preservadas e apenas uma das amostras não preservadas deu resultado positivo no ensaio imunoenzimático. Conclusões definitivas sobre reações cruzadas dependem do término dos testes com um número maior de amostras.

Apoio financeiro: FAPEMIG, PRPq/UFMG, Biobrás.

16

PROTOZOÁRIOS NÃO PATOGÊNICOS, DISTENSÃO ABDOMINAL, NEUTROFILOS E MONÓCITOS.

Maria de Fatima Guanaes (HGRS)
Alan Roberto Xavier Malheiros (HGRS)
Maria de Lourdes Pires Nascimento (HGRS)
Maria de Fátima Brazil (UNEB)
Maria das Mercês Porto Borja (HGRS)
Lúcia Lima da Silva (HGRS)

Hospital Geral Roberto Santos (HGRS) e Universidade Estadual da Bahia (UNEB)

Na clínica habitual não é relevante, para tratamento, a presença de E. coli, E nana e Iodamoeba b. pois são classificados como Protozoários não Patogênicos, alguns autores discordam deste fato. Existe maior atenção para os eosinófilos quando se observam os resultados do leucograma das infestação parasitárias. Cada tipo de parasitose tem um determinado mecanismo de atuação, isto pode gerar diferentes respostas no leucograma. Objetivos: comparar os resultados da distensão abdominal e do leucograma em 4 grupos: A) Parasitológico de Fezes Nagativo (46 casos); B) Somente com Infestação por Helmintos (116 casos); C) Somente com Infestação por Protozoários Não Patogênicos (34 casos) e D) Com Infestação por Helmintos e Protozoários Não Patogênicos (53 casos). Principais Resultados : 249 casos com caracteristicas clínicas e socio-econômicas semelhantes, sendo que 50,6% tinham entre 1 a 10 anos de idade. Os grupos C e D apresentaram as maiores freqüências para Distensão Abdominal (C = 29,4% e D = 26,4%) do que o grupo A (10,9%) sendo significante estatisticamente. Os grupos C e D também apresentaram os maiores valores médios para Neutrofilos / mm^3 - C = 5.121 (± 1.918) e D = 4.628 (± 1.978) e Monócitos / mm^3 - C = 497 (± 256) e D = 437 (± 334) quando comparados com o grupo A: Neutrofilos = 4.190 (± 1.672) e Monócitos = 381 (± 256), sendo estas relações estatisticamente significativas.
Em vista da frequência de Protozoários não Patogênicos na população são necessários outros estudos para elucidação da sintomatologia, leucograma e Protozoários não Patogênicos

17

ESTUDO CINÉTICO DA INIBIÇÃO DA ATIVIDADE AMIDÁSICA DA CALICREÍNA URINÁRIA HUMANA PELA ANILINA, BENZAMIDINA E P-AMINOBENZAMIDINA

Marinez O. Sousa, Tânia L. S. Miranda, Edmar B. Costa, Marcelo M. Santoro e Amintas F. S. Figueiredo.
Núcleo de Pesquisa / Dept°. Análises Clínicas e Toxicológicas / Faculdade de Farmácia da UFMG.
Número 2 - Bioquímica Clínica.
A calicreína urinária humana é uma enzima produzida no rim. Ela possui atividade proteolítica específica e restrita sobre o seu substrato natural o cininogênio presente no plasma, liberando o peptídeo vasoativo lisil-bradicinina. Esta, como outras cininas, apresenta entre outros os seguintes efeitos biológicos: no animal produz hipotensão, dor, edema local, inflamação, etc; em tecidos isolados produz contração de útero, intestinos, brônquios, etc. A calicreína urinária humana hidrolisa, também, substratos sintéticos dos tipos amida e éster derivados da arginina Nα-substituída. A enzima foi purificada a partir de urina humana masculina como descrito por Miranda (1995). A identidade entre a preparação atual de calicreína e a da descrita por Miranda (1995) foi confirmada pelas concordâncias do PM determinado por filtração em gel de Superose 12 HR 10/30 em equipamento FPLC e do K_m determinado com o substrato D-ValLeuArg p-nitroanilida (S-2266). Atualmente estão sendo realizados estudos cinéticos da inibição da atividade amidásica da enzima pela anilina, benzamidina e p-amino-benzamidina visando caracterizar melhor as suas propriedades cinéticas. Uma melhor caracterização cinética da calicreína urinária humana é de fundamental importância para orientar futuros estudos de dosagem de sua atividade amidásica na urina de indivíduos normais e de pacientes com hipertensão essencial com o objetivo de se desenvolver um método laboratorial auxiliar no diagnóstico de alguns tipos de hipertensão essencial.
Apoio financeiro FAPEMIG, PRPq/UFMG e CNPq.

18

TOTAL TEST E MÉTODOS USADOS NO EXAME DE FEZES : UM ESTUDO COMPARATIVO

Luiz Candido de Souza Dias [1] ; Ana Célia Steffen Mangini [2] ; Angela Teresinha Lauand Sampaio Teixeira [1] & Rosa Maria Donini Souza Dias [2]
[1] Departamento de Patologia Clínica, da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP (CP 6111 , Campinas, SP) ; [2] Instituto Adolfo Lutz (São Paulo, SP)

Examinamos 279 amostras de fezes de pacientes do Hospital das Clínicas, da UNICAMP e do I. A. Lutz . Cada amostra foi dividida para execução das técnicas de Lutz (sedimentação espontânea), Total Test, Rugai et al. Pelo Lutz constatou-se 73,1% das amostras parasitadas e 74,2% pelo Total Test; por este método detectamos 21,5% de Endolimax nana e 24,0% pelo Lutz; com relação a Entamoeba histolytica pela técnica de Lutz acusamos 12,9% de portadores e 15,0% pelo Total test; para outros protozoários como Giardia intestinalis, E. coli e Iodamoeba butschlii não houve diferenças. Entre os helmintos verificamos pelo Lutz 3,9% parasitados por ancilostomatídeos e 7,2% pelo Total test; para outros vermes não se registrou diferenças. Pelo Lutz e Total Test constatamos, respectivamente, 5,4% e 5,0% das fezes com Strongyloides stercoralis; já pelo Rugai et al. observamos 8,6% de portadores deste nematóide. Examinamos fezes de 128 indivíduos pelos métodos de Kato-Katz e Total test, sendo a prevalência para Trichuris trichiura de 19,5% e 18,0%, Ascaris lumbricoides 16,4% e 18,0% e ancilostomatídeos 14,1% e 13,3% respectivamente. Concluímos que o Total test foi igual ao método de Lutz , afigurando-se ambas , ligeiramente, inferiores ao de Rugai et al. quanto ao diagnóstico da estrongiloidíase. Todavia, o Total test apresentou vantagens como: aumentou a produtividade, simplificou os utensílios (cálices, pipetas, bastões, gaze, etc.), eliminou o odor do ambiente e economizou espaço físico.

19

VALORES DE REFERÊNCIA DE INDICADORES BIOLÓGICOS UTILIZADOS NA MONITORIZAÇÃO DE EXPOSIÇÕES OCUPACIONAIS: SUB-PROJETO III - TIOCIANATOS URINÁRIOS

Zelaine Lima Silva, Edna Maria Alvarez Leite, Josianne Nicácio Silveira, Leiliane Coelho André Amorim
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG

O ácido cianídrico, cianetos e nitrilas constituem um grupo de substâncias químicas cuja característica comum é possuir o radical cianeto. Estas substâncias são utilizadas ocupacionalmente em metalurgias, eletroplatinagem, limpeza de metais e síntese química como o de praguicidas. A principal ação tóxica do íon cianeto é a hipóxia, resultante da inibição da citocromo oxidade nas mitocôndrias. A maior parte dos cianetos absorvidos, são excretados na urina na forma de tiocianatos. A legislação brasileira no que se refere à monitorização biológica das exposições ocupacionais, estabelece a determinação do tiocianato urinário como biomarcados das substâncias acima mencionadas. Uma vez que, o hábito de fumar influencia significativamente a excreção urinária do tiocianato, torna-se essencial estudar e estabelecer os valores de referência na população brasileira. Este é o objetivo primordial deste trabalho.
Fonte Financiadora: FAPEMIG

20

PERFIL DAS MENINGITES BACTERIANAS EM UM HOSPITAL GERAL

BRIENZE,VMS; LISO,E; Maretti,MA; Silva,CR; Filipe,FM.
Introdução:As Meningites Bacterianas(MB) tem tido grandes avanços no conhecimento dos Agentes Etiológicos(AE) na imunologia e na terapêutica. Este estudo propõe conhecer o comportamento das MB em nosso meio.
Material e Métodos:338 casos de MB admitidos de janeiro/92 a janeiro/96, obedecendo critérios de inclusão:quadro clínico e identificação do agente no líquor por - bacterioscopia, cultura, aglutinação em látex; feita Análise Geral(faixas etárias) e Análise Específica(hospitalares e comunitárias).
Resultados:Na Análise Geral o H.influenzae foi o mais freqüente(12%) sendo 63% em menores de 1 ano. As MB hospitalares foram 36% dos casos(bacilos entéricos); e as comunitárias, 64% sendo H.influenzae, N.meningitidis e S.pneumoniae responsáveis por 73%. O uso prévio de ATB definiu 50% de casos Não Identificados(NI).
Conclusão:Foi observado uma grande incidência de MB até 1 ano.O uso indiscriminado de ATB e contato hospitalar podem justificar o grande número de NI.Este estudo permitiu um melhor controle das infecções hospitalares,racionalização do uso de ATB para melhores resultados.

21

DIAGNÓSTICO PRECOCE DA INFEÇÃO PELO HIV-1 EM RECÉM-NASCIDOS ATRAVÉS DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR).

Autores: KASHIMA, S.[1,2]; BÍSCARO, T. A.[1] & COVAS, D. T.[1] **Instituições:** [1]HEMOCENTRO DE RIBEIRÃO PRETO [2]UNIVERSIDADE DE RIBEIRÃO PRETO.

Introdução: A transmissão materno-fetal do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) é uma importante causa no aumento da incidência do vírus na população infantil. Visto que o recém-nascido recebe passivamente anticorpos da mãe e estes podem permanecer circulantes até aos 18 meses de idade, o diagnóstico precoce através de métodos sorológicos que pesquisam IgG torna-se impraticável. **Objetivos:** Avaliar a utilização da reação em cadeia da polimerase (PCR) para a detecção do DNA proviral do HIV-1 em recém-nascidos, bem como caracterizar e comparar a região gênica do envelope viral das mães e recém-nascidos infectados. **Métodos:** Foram analisados 47 pares de mães e recém-nascidos com sorologia positiva (ELISA e "Western Blot"). Estas amostras foram analisadas para 3 regiões gênicas conservadas do HIV-1: *gag, env e LTR*. Através da técnica de seqüenciamento direto (método de Sanger), foram analisadas as seqüências gênicas de 5 mães e seus respectivos recém-nascidos que apresentaram positividade para a PCR. **Resultados:** Os resultados para a PCR das mães soropositivas mostraram que todas as 47 amostras testadas apresentaram positividade (100%) para o método quando analisadas as 3 regiões gênicas em conjunto. Quando empregou-se a metodologia de "nested PCR" para a região *env* na análise das mães soropositivas, a sensibilidade de detecção para esta região aumentou consideravelmente (de 74.5% para 93.3%) mostrando ainda a possibilidade de detecção de fragmentos virais sem a necessidade de técnicas de hibridização. O método de PCR para diagnóstico precoce de recém-nascidos apresentou eficiência de 63.6 %. O teste mostrou 100% de valor preditivo positivo para este grupo. Estes resultados sugerem que um resultado de PCR positivo não necessita confirmação posterior. O valor preditivo negativo do teste foi de 90%. A seqüência da região do envelope viral correspondente à região variável 3 (V3) foi determinada, mostrando que esta região não apresenta variabilidade quando analisamos o segmento do HIV-1 transmitido verticalmente. **Conclusão:** Os resultados obtidos neste estudo sugerem a utilização da PCR como método de diagnóstico em recém-nascidos de mães infectadas pelo HIV-1, permitindo a intervenção com recursos terapêuticos disponíveis na tentativa de melhorar a sobrevida desta população. Ainda, o estudo da seqüência da região do envelope viral pode ser útil na determinação de fatores que determinam a transmissão vertical do HIV-1. **Apoio Financeiro: FUNDHERP.**

22

AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE TRABALHADORES RURAIS EXPOSTOS A INSETICIDA ORGANOFOSFORADO.

ESTEVES, M.T.C.; SIQUEIRA, M.E.P.B.; FREITAS, M.L.; MARTINS, I & PUPIN, A.
Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas-MG.

A prevenção de intoxicações ocasionadas pelos inseticidas organofosforados, através da monitorização biológica é feita pela determinação de atividade das colinesterases sanguíneas: acetilcolinesterase eritrocitária (Ach-E) e pseudooolinesterase plasmática (Ach-P). O trabalho objetivou avaliar a exposição de trabalhadores rurais a inseticidas organofosforados usados na lavoura de café e de cana-de-açúcar, bem oomo verificar se alguns parâmetros hematológicos e bioquímicos podem ser afetados pela exposição. A atividade enzimática das colinesterases foi determinada pelo método espectrofotométrico modificado de Ellman et al., usando o método de Silva e Mídio para a triagem. Foram avaliados 58 trabalhadores em período de pré e pós-exposição e o mesmo para todos os exames realizados. As atividades enzimáticas obtidas após a exposição foram cotejadas com as determinações antes da exposição, tendo-se verificado inibições variando entre 0,2% e 42,6% para a Ach-E e entre 2,3% e 50% para a Ach-P. Observou-se ligeira diminuição dos índices hematimétricos; alterações pouco significativas foram verificadas na atividade da fosfatase alcalina, ao se comparar os resultados individuais obtidos antes e após a exposição. O abaixamento das colinesterases, em valores de % de inibição, para a maioria dos trabalhadores, foram menores de que os limites preconizados pela legislação brasileira, o que configura exposição aos inseticidas em níveis considerados seguros; porém as alterações bioquímicas e hematológicas verificadas mostram que, provevelmente, estes xenobióticos afetam outros parâmetros no organismo relacionados com a saúde, cuja significação clínica precisa ser avaliada. INST.FINANCIADORA: CNPq

23

ESTUDOS DA AÇÃO DE FRAÇÕES DE PLANTAS MEDICINAIS SOBRE A PRODUÇÃO DE AFLATOXINAS EM AMENDOIM

Verbena Lima Vale, Samia Laura Rodrigues, Adriana Matos Rodrigues
Departamento de Farmácia / CCS - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ce

A contaminação dos alimentos com aflatoxinas, substâncias tóxicas e carcinogênicas produzidas por fungos tipo *Aspergillus flavus*, apresenta-se como um problema de saúde pública a ser resolvido. Diante da verificação de elevados teores de aflatoxina em amendoim e milho comercializados no Ceará (estudos anteriores) e considerando que muitas pesquisas sobre a inativação da biossíntese da aflatoxina usando-se produtos químicos ou substâncias isoladas de plantas, estão motivando grandes expectativas, decidimos estudar a ação de frações de plantas medicinais de nossa região que têm reconhecida ação antifúngica, sobre a produção dessa micotoxina em amendoim. As plantas medicinais investigadas foram: *Lippia sidoides* (alecrim pimenta), *Lippia microphylla* (alecrim de tabuleiro) *Ocimum gratissimum* (alfavaca-cravo) *Plectranthus amboinicus* (malvariço) e *Cymbopogon citratus* (capim santo). Utilizamos extrato aquoso, óleo essencial e frações trituradas de folhas que foram adicionados, em concentrações de 12 a 120 mg/g, às amostras de amendoim contendo 30 a 80 ppb de aflatoxina B_1, triturado e umidificado com água destilada. Os teores de aflatoxina B_1 foram determinados pelo método de Soares e Rodriguez-Amaya (1985) nas amostras de amendoim teste e controle (sem adição de frações) antes e após a incubação das amostras, durante 7 e 15 dias em temperatura ambiente. Observamos redução, de 30 a 100% , dos teores de aflatoxina B_1, na maioria das amostras, obtendo-se melhores resultados naquelas onde adicionou-se óleo essencial do alecrim pimenta e do capim santo, pois houve redução de 100% com a maioria das concentrações adicionadas.

24

ESTUDOS TOXICOLÓGICOS DE PLANTAS MEDICINAIS DE LARGO USO POPULAR NO NORDESTE

Verbena Lima Vale, Teresa de Jesus Pontes Carvalho, Wanderley P. de Holanda Júnior e Sammara Tavares Nunes
Departamento de Farmácia / CCS - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza -Ce

O alto custo dos medicamentos industrializados constitui uma grande barreira para o abastecimento regular dos medicamentos necessários aos serviços de saúde, fazendo com que cerca de 85% da população brasileira utilize as plantas medicinais para a cura de suas moléstias. A avaliação da eficácia terapêutica e da segurança dessas plantas faz-se urgente e necessária. Nesse sentido, vários estudos químicos e farmacológicos estão sendo realizados em todo país. Entretanto, a investigação toxicológica, principalmente em plantas nordestinas, é restrita e incompleta. Diante disso e de uma enquete feita com os raizeiros de Fortaleza, selecionamos 10 plantas medicinais de amplo uso local para pesquisá-las sob o aspecto toxicológico, as quais são: **mastruz** (*Chenopodium ambrosioides*), **malvariço** (*Plectranthus amboinicus*), **courama-branca** (*Kalanchoe brasiliensis*), **ipecacuanha-branca** (*Hybanthus ipecacuanha*), **boldo do chile** (*Peumus boldus*), **cebola-branca** (*Amaryllis belladona*) **romã** (*Punica granatum*), **vassourinha** (*Scoparia dulcis*), **mororó** (*Bauhinia ungulata*) e **mentrasto** (*Ageratum conyzoides*). Estudos de toxicidade aguda foram realizados em ratos albinos, variedade Wistar, adultos jovens, de ambos os sexos, utilizando-se doses fixas de 1000 a 7000 mg/kg de diferentes preparações populares ministradas por via oral, através de sonda gástrica. Com exceção do óleo essencial do mastruz, não observou-se quaisquer manifestações tóxicas nos ratos.

25

CONTRIBUIÇÃO DA ANÁLISE CLÍNICA NA IDENTIFICAÇÃO DE REAÇÕES ADVERSAS - Nair Ramos de Souza; Paulo Sérgio Dourado Arrais e Helena Lutescia Luna Coelho,

Está sendo implantado no Ceará o Sistema Estadual de Farmacovigilância, através de convênio entre a UFC e a Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, tendo como orgão executor o **GPUIM** (Grupo de Prevenção ao Uso Indevido de Medicamentos) do Departamento de Farmácia. O objetivo geral dessa iniciativa é acompanhar de forma sistemática a ocorrência de reações adversas a medicamentos (RAM) no Ceará. O intuito do presente trabalho é demonstrar a importância das Análises Clínicas na detecção de reações adversas a medicamentos e ao mesmo tempo sensibilizar os profissionais da área da importante contribuição que podem dar ao programa, pois através dos exames de laboratório se pode detectar ou confirmar suspeitas de reações adversas a medicamentos. Como por exemplo: **Anemia Ferropriva** pode ser decorrente do uso de salicilatos, onde o hemograma mostra anemia hipocrômica, microcítica, anisocitose e poiquilocitose; **Anemia Megaloblastica** pode ser devida ao uso de fenobarbital, fenitoína, carbamazepina, onde o hemograma revela anisocitose, poiquilocitose, macrocitose, VCM>110, neutrófilos, hipersegmentados, reticulócitos reduzidos, pancitopenia.; **Anemia Hemolítica** pode ser decorrente do uso de metil-dopa, L-dopa ou penicilina ou cefalosporina entre outros. O hemograma pode revelar anemia, Hiperbilirrubinemia, aumento de esterocobilinogênio nas fezes e de urobilinogênio na urina; **Insuficiência Renal Aguda** pode ser devida ao uso de neomicacina, gentamicina, amicacina e pode se confirmar com a Análise bioquímica de sangue e urina; **Pancreatite aguda** relacionado ao uso de corticosteróides, tiazídicos, furosemida, teraciclina e uma forma de detectar é a dosagem de amilase.

26

MARCADORES SOROLÓGICOS COMO INSTRUMENTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DAS HEPATITES VIRAIS.

AUTORES: Dalla Costa, E.M.O.; Okamoto, A.T.-Univ.Est.Londrina

INTRODUÇÃO: Implantado no ano de 1992, a Vig. Epidemiológica das Hepatites virais no Município de Cambé, localizado no Norte do Paraná,obteve melhoria significativa de suas ações à partir da introdução da investigação sorológica através de marcadores virais.

OBJETIVOS: -Descrever o perfil epidemiológico das hepatites virais no período de jan. a dez de 1995, de casos notificados e de seus comunicantes

- Caracterização sorológica das hepatites virais.

METODOLOGIA: Análise de Fichas de Investigação Epidemiológica de casos notificados. Encaminhamento de amostras para realização de provas de função hepáticas Resultados alterados, encaminhar para realização de testes de marcadores sorológicos no Laboratório Central do Paraná, em Curitiba.

RES/DISCUSSÃO: Das análises realizadas, 62,2% dos casos foram pelo Vírus A, predominando na faixa de 05 a 09 anos, seguido de 11,3% de Vírus B, prevalecendo na faixa de 15 anos e mais. Detectou-se ainda 01 caso de Hepatite C. Quanto à evolução dos casos de Hptt B, 58,3% eram portadores, 16,7% tinham AntiHBS reag. e 16,7% tinham diagnóstico de portador crônico. A análise dos comunicantes demonstrou 38,7% com AgHBS não reag., 29% imunes e 3,3% infecção recente, possibilitando a adoção de medidas de controle e acompanhamento dos casos e prevenção através de orientação e imunização.

27

LEISHMANIOSE VISCERAL EM FEIRA DE SANTANA - BA: INQUÉRITO SOROLÓGICO DE CÃES E A RELAÇÃO ENTRE A POSITIVIDADE CANINA E CASOS HUMANOS POR LOCALIDADE. FEV - 95 A DEZ - 96.

Simone Souza de Oliveira, Selma Santa Barbara da Silva, Joelande Esquivel Correia e João Francisco dos Santos.

Tendo em vista o surto epidêmico de L. visceral em Feira de Santana-Ba em 1994, analisou-se a positividade canina no período de 1995 - 1996 nas áreas peri-urbanas e rurais do município. Tomou - se como base a distribuição de casos humanos ocorridos e a relação com a positividade canina por localidade, bem como a comparação entre o diagnóstico laboratorial e o clínico realizado no momento da coleta , fez-se um levantamento de dados do inquérito canino no Distrito Sanitário/FNS e ficha de notificação de doenças transmissíveis da SESAB / 2ª DIRES. O levantamento sorológico da população canina num total de 15.008 amostras, apresentou um percentual de positividade de 2,53% em 1995 e 0,63% em 1996, estando a maioria dos cães com a aparência sadia. Após pesquisa inicial observou-se uma nítida correlação entre a ocorrência de casos humanos e a prevalência canina, o que faz concluir que é de grande importância o inquérito sorológico para diagnosticar e medir a extensão do problema.

28

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE UM DESINFETANTE HOSPITALAR NO COMBATE ÀS INFECÇÕES HOSPITALARES

Autores: FRANCISCO EINSTEIN DO NASCIMENTO
MARIA DE JESUS LIMA DO NASCIMENTO

Para avaliação da atividade antimicrobiana de um desinfetante hospitalar a base de Fenol no combate às infecções hospitalares , foram realizados vários ensaios na diluição recomendada pelo fabricante , como também em outras diluições

Como já é sabido, desinfetantes são substâncias químicas empregadas para destruir microrganismos sobre a superfície, porém são demasiadamente tóxicos quando aplicados diretamente nos tecidos vivos, sendo usados em ambientes, utensílios hospitalares e domésticos.

O desinfetante em estudo é o Fenol sintético como substância ativa, que atua através da desnaturação das proteínas celulares e pelo dano das membranas celulares, podendo ser bactericida ou bacteriostático dependendo da concentração.

Este trabalho tem como objetivo, avaliar quais concentrações apresentam atividade bactericida em um produto comercial de uso hospitalar.

O método empregado foi o Microbiológico *in vitro*, classificado em teste com carreadores, baseados nos procedimentos técnicos do Manual de Saneantes do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), usando cepas padronizadas. Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442, Staphylococcus aureus ATCC 6538 e Salmonella choleraesuis ATCC 10708.

As diluições testadas, 3 %, 5 % (recomendada pelo fabricante), 10 % e 20 % somente a última apresentou eficácia quanto a sua ação desinfetante.

Após ,os testes realizados, observou-se que o Fenol sintético , na diluição recomendada pelo fabricante , não apresenta segurança no combate às infecções hospitalares.

29

A UTILIZAÇÃO DO TAMARINDO (*Tamarindus indica*) COMO REDUTOR DO COLESTEROL PLASMÁTICO

Teresinha M.M.Guimarães[1], Zélia M.Souza[2], Paulo M.B.Góis Filho[3], Cyrla S.Araújo[4]
DFS e DACT / UFRN
Departamento de Fisiologia - CB - UFRN
Caixa Postal 1511 - CEP: 59.072-970 - Natal / RN

O objetivo principal deste estudo foi investigar os efeitos da ingestão diária da decocção de Tamarindo, sobre os níveis de Colesterol Total e suas diversas Frações (HDL e LDL). A análise foi realizada em um grupo de humanos, composto de cinco homens e onze mulheres. Para cada participante determinou-se inicialmente os níveis das frações a serem pesquisadas e imediatamente após, iniciou-se a ingestão diária de 100 mililitros da decocção do Tamarindo, duas vezes ao dia, no período de aproximadamente 100 dias. Nenhuma exigência fez-se aos participantes com relação a dieta, uso de cigarros, etc. Os resultados indicam que a ingestão de Tamarindo , não é suficiente para reduzir os níveis de colesterol e suas respectivas frações.

[1] Professora do DFS
[2] Professora do DACT
[3] Bolsista PIBIC/CNPq
[4] Estudante do Curso de Farmácia

30

EXISTE CORRELAÇÃO ENTRE A INGESTÃO DE *Tamarindus indica* (TAMARINDO) E OS NÍVEIS DE TRIGLICÉRIDES PLASMÁTICOS?

Teresinha M.M.Guimarães[1], Zélia M.Souza[2], Paulo M.B.Góis Filho[3], Cyrla S.Araújo[4]
DFS e DACT / UFRN
Departamento de Fisiologia - CB - UFRN
Caixa Postal 1511 - CEP: 59.072-970 - Natal / RN

Costumes populares em algumas regiões do Nordeste apontam a ingestão de suco, água ou decocção de Tamarindo, como um eficaz redutor dos níveis de Triglicérides plasmáticos. O propósito desta investigação foi avaliar o fato, utilizando-se para isto um grupo de pessoas, as quais se submeteram a dois tratamentos distintos: no primeiro, ingeriram a decocção duas vezes ao dia e, no segundo, três vezes, por um determinado período de tempo. Antes e durante os tratamentos, amostras de sangue foram coletadas e utilizadas para dosar os níveis de Triglicérides. Os resultados obtidos demonstraram uma situação inversa ao esperado. Apesar disto, não estamos considerando o fato como definitivo em virtude de no decorrer da pesquisa não ter-se controlado fatores que influenciam diretamente nos níveis de Triglicérides, tais como: gorduras e carboidratos na dieta, stress e outros.

[1] Professora de DFS;
[2] Professora do DACT;
[3] Bolsista PIBIC/CNPq;
[4] Estudante do Curso de Farmácia

31

RELAÇÃO ENTRE A ATIVIDADE DA GLICOSE 6-FOSFATASE E NÍVEL DE GLICOGÊNIO EM FÍGADO DE RATOS COM RESTRIÇÃO ALIMENTAR

Christiane Vieira Reis[3], Jane Maciel Almeida Baptista[1], Marinez de Oliveira Sousa[2], Elaine Emar Ribeiro César[2]
Disciplina de Bioquímica Clínica - Faculdade de Farmácia da UFMG
1. Coordenador - Professor Adjunto
2. Pesquisadores - Professor Assistente
3. Bolsista de Iniciação Científica/CNPq

A glicose 6-fosfatase é uma enzima microssomal que tem um papel fundamental no metabolismo da glicose. Através de sua ação ocorre a liberação da glicose à partir da glicose 6-fosfato, proveniente da glicogenólise ou da gliconeogênese. A atividade da enzima foi determinada em fígado fresco de ratos com alimentação normal e com restrição de 40% da alimentação. A dosagem de glicogênio foi também medida. A atividade da enzima em ratos com alimentação normal e com alimentação restrita foi de, respectivamente, 5,8 e 7,7 UI/g de fígado. A dosagem de glicogênio obtida foi de, respectivamente, 1,65 e 0,04 g/100g de fígado. Encontrou-se, assim, uma atividade mais elevada da enzima e uma quantidade reduzida de glicogênio hepático nos animais com restrição alimentar. Observou-se maior consumo de glicogênio nos animais restritos que o utilizaram como fonte de energia.

CNPq, PRPq/UFMG

32

ESTUDO DA REPRODUTIBILIDADE DA ATIVIDADE DA GLICOSE 6-FOSFATASE EM FÍGADO DE RATOS

Christiane Vieira Reis[3], Jane Maciel Almeida Baptista[1], Marinez de Oliveira Sousa[2], Elaine Emar Ribeiro César[2], Cláudio Pinho de Brito[3]
Disciplina de Bioquímica Clínica - Faculdade de Farmácia da UFMG
1. Coordenador - Professor Adjunto
2. Pesquisadores - Professor Assistente
3. Bolsista de Iniciação Científica/CNPq

A glicose 6-fosfatase é uma enzima microssomal, encontrada no fígado, onde catalisa a liberação da glicose à partir da glicose 6-fosfato. A atividade da enzima foi testada em 18 determinações, com o objetivo de se observar a reprodutibilidade desta dosagem. Foram utilizadas 18 amostras de 20 mg de fígado de rato, de um mesmo animal. A metodologia utilizada foi colorimétrica, através da medida da quantidade de fósforo inorgânico liberado após a ação da enzima. A média encontrada foi de 7,3, com um desvio padrão de 1,1 e coeficiente de variação de 15%. A diferença observada entre as medidas pode ser explicada pelo local, do fígado, onde foi retirada a amostra para dosagem. A amostra, rica em estroma e tecido conjuntivo contém um menor número de hepatócitos e, portanto, menor atividade enzimática.

CNPq, PRPq/UFMG

33

ESTABILIDADE DA ATIVIDADE DA GLICOSE 6-FOSFATASE EM AMOSTRAS DE FÍGADO DE RATOS

Cláudio Pinho de Brito[3], Jane Maciel Almeida Baptista[1], Marinez de Oliveira Sousa[2], Elaine Emar Ribeiro César[2], Christiane Vieira Reis[3]
Disciplina de Bioquímica Clínica - Faculdade de Farmácia da UFMG
1. Coordenador - Professor Adjunto
2. Pesquisadores - Professor Assistente
3. Bolsista de Iniciação Científica/CNPq

A glicose 6-fosfatase é uma enzima microssomal, encontrada no fígado, onde exerce papel no metabolismo da glicose. A atividade da enzima foi determinada através de um método colorimétrico, em fígado de ratos, após jejum de 8 horas. Após a obtenção do fígado, ele foi lavado em NaCl 154 mmol/L à frio e conservado em geladeira, em frasco tampado. A atividade da enzima foi testada no primeiro, segundo, terceiro e sete dias após a coleta. Observou-se que a enzima não apresenta boa estabilidade no material à fresco. Ocorre perda de 0 a 27% da atividade após 24 horas da coleta e de 0 a 34% em 48 horas. A perda da atividade após 1 semana é de mais de 50%. Através deste parâmetro concluiu-se que a determinação da atividade desta enzima deve ser executada no dia da coleta do material hepático.

CNPq, PRPq/UFMG

34

ATIVIDADE DA GLICOSE 6-FOSFATASE EM FÍGADO DE RATOS

Jane Maciel Almeida Baptista[1], Marinez de Oliveira Sousa[2], Elaine Emar Ribeiro César[2], Christiane Vieira Reis[3], Cláudio Pinho de Brito[3]
Disciplina de Bioquímica Clínica - Faculdade de Farmácia da UFMG
1. Coordenador - Professor Adjunto
2. Pesquisadores - Professor Assistente
3. Bolsista de Iniciação Científica/CNPq

A glicose 6-fosfatase é uma enzima microssomal que tem um papel fundamental no metabolismo da glicose. Através de sua ação ocorre a liberação da glicose à partir da glicose 6-fosfato, proveniente da glicogenólise ou da gliconeogênese. A deficiência desta enzima é responsável por um quadro clínico caracterizado por hipoglicemia, hepatomegalia, hiperuricemia e acidose metabólica, denominado de Doença de von Gierke. Utilizando-se de um método colorimétrico que mede a quantidade de fósforo inorgânico liberado após a ação da enzima, foi feita a medida da atividade da glicose 6-fosfatase em fígado de ratos. A atividade foi determinada em 20 amostras de fígado fresco, de ratos com peso de 250 a 300g. A atividade média encontrada foi de 5,8 UI/g de fígado (3,6 a 10,2 UI/g de fígado), estando de acordo com as referências consultadas.

CNPq, PRPq/UFMG

35

INFLUÊNCIA DO JEJUM SOBRE A ATIVIDADE DA GLICOSE 6-FOSFATASE E A DOSAGEM DO GLICOGÊNIO EM FÍGADO DE RATOS

Jane Maciel Almeida Baptista[1], Marinez de Oliveira Sousa[2], Elaine Emar Ribeiro César[2], Christiane Vieira Reis[3]
Disciplina de Bioquímica Clínica - Faculdade de Farmácia da UFMG
1. Coordenador - Professor Adjunto
2. Pesquisadores - Professor Assistente
3. Bolsista de Iniciação Científica/CNPq

A glicose 6-fosfatase é uma enzima microssomal que tem papel fundamental no metabolismo da glicose. Através de sua ação ocorre a liberação da glicose à partir da glicose 6-fosfato, proveniente da glicogenólise ou da gliconeogênese. A atividade da enzima foi determinada em fígado fresco de ratos com alimentação normal, após jejum de 8 horas e após jejum de 24 horas. Paralelamente, dosou-se o glicogênio hepático. As atividades da enzima glicose 6-fosfatase encontradas foram, respectivamente, 5,8; 7,7 e 18,4 UI/g de fígado. As dosagens de glicogênio obtidas foram, respctivamente 1,65; 0,05 e 0,0 g/100g de fígado. Observou-se que quanto maior o tempo de jejum, maior é a atividade da enzima e menor a quantidade de glicogênio hepático, que foi consumido como fonte de energia.

CNPq, PRPq/UFMG

36

NOVOS SUBSTRATOS FLUOROGÊNICOS COM APAGAMENTO INTRAMOLECULAR PARA ESTUDO DE ENZIMAS COM ATIVIDADE DE TROMBINA.

Henrique P. B. Magalhães[1]; Luis Juliano Neto[2]; Eurídice Carmona[3], Edyr Rogana[4]; Arinos Magalhães[5].

1. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - Faculdade de Farmácia - UFMG
2. Departamento de Biofísica - Escola Paulista de Medicina
3. Serviço de Farmacologia - Instituto Butantan
4. Departamento de Biofísica - ICB - UFMG
5. Divisão de Pesquisa - FUNED

A trombina atua na última etapa da cascata da coagulação, ao clivar ligações Arg - Gly nas cadeias α e β do fibrinogênio e na cadeia α do fator XIII, resultando na formação do coágulo de fibrina. Com o objetivo de estudar enzimas que atuam com especificidade diferente da trombina na molécula do fibrinogênio, na procura de drogas antitrombóticas, sintetizamos três substratos fluorogênicos: A = ABz-Gly - Val - Arg - Gly - Pro - Ala - Gln - EDDnp (cadeia α do fibrinogênio); B = ABz - Ser - Ala - Arg - Gly - His - Ala - Gln - EDDnp (cadeia β do fibrinogênio); C = Abz - Val - Pro - Arg - Gly - Val - Asp - Gln - EDDnp (cadeia α do fator XIII). Utilizando uma enzima purificada a partir do veneno da serpente *Lachesis muta muta* que tem especificidade direcionada para ligação Arg-Gly da cadeia α do fibrinogênio, efetuamos os ensaios da atividade hidrolítica da enzima perante aos três substratos em pH 8,0 a 37°C. Os parâmetros cinéticos obtidos foram os seguintes: Kcat/Km = 98 x 10^{-4} $\mu M^{-1}.s^{-1}$ (substrato A); Kcat/Km = 11 x 10^{-4} $\mu M^{-1}.s^{-1}$ (substrato B) e Kcat/Km = 3 x 10^{-4} $\mu M^{-1}.s^{-1}$ (substrato C). Os resultados experimentais indicaram uma constante de especificidade (Kcat/Km) bem maior para o substrato que mimetiza a cadeia α do fibrinogênio, confirmando a atividade biológica da enzima sobre o substrato natural. Assim temos que a síntese destes substratos poderá nos auxiliar a compreender e diagnosticar patologias associadas a defeitos na molécula do fibrinogênio.

37

PADRÃO BIOQUÍMICO SÉRICO EM MENOPAUSADAS PORTADORAS DE DIABETES MELLITUS NÃO INSULINO-DEPENDENTE (DMNID), PRATICANTES E NÃO PRATICANTES DE EXERCÍCIO AERRÓBIO (ANÁLISE DO PADRÃO GLICÊMICO). †Teles, S.G.; †Pinho, A.P. *‡Neiva, C.M.; *‡Bendassoli, M. S.; *Balikian P. Jr. †Lab. de Análise Clínicas da UNAERP * Lab. de Fisiologia e Nutrologia Experimental UNAERP, ‡Depto. de Fisiologia e Biofísica IB - UNICAMP.

O DMNID ou Diabetes do Tipo II, caracteriza-se por uma aumento nos níveis séricos de glicose bem como perda de glicose pela urina, causados por uma incapacidade das células musculares e adipócitos de sensibilizar-se à insulina endógena, dificultando assim a metabolização da glicose. O objetivo desse estudo foi comparar possíveis diferenças nos níveis séricos de glicose entre grupos de mulheres menopausadas e portadoras de Diabetes tipo II, inclusas e não inclusas em progrma profilático de exercícios físicos. Foram analisadas 32 mulheres da cidade de Ribeirão Preto-SP, entre 47,3 e 59,5 anos com média igual 49,2 ± 1,3 anos de idade, menopausadas e portadoras de DMNID. Foram separados dois grupos distintos a saber: praticantes de exercício regular (P)- n=22, e não praticantes (NP)-n=10. O grupo P caracterizou-se por mulheres que praticavam exercício aeróbio, entre 1 e 3 anos (média 1,7 anos), em uma média semanal de 135 minutos divididos em três sessões de 45 minutos a cada 48 horas. As amostras de sangue foram coletadas sempre pela manha, após jejum prévio de 12 horas. O soro foi separado por centrifugação a 3000 rpm. A glicemia foi analisada por método enzimático em aprelho eletroquímico Cobas Mira Plus da Roche e os resultados expressos em mg/dl. O Tratamento estatístico utilizado para os resultados foi teste "t de Student", para dados não pareados. O coeficiente de significância foi de 0,05. Os resultados encontrados foram expressos em média e desvio padrão, respectivamente e são apresentados a seguir: glicose P=(117,5 ±11,1 mg/dl) NP=(168 ±7,4 mg/dl). Os resultados apontam diferença significativa entre os grupos analisados. Em comparação com a literatura, os resultados encontrados coincidem com dados relatados para populações européias e norte americanas. Podemos ainda apontar uma possível relação diratamente proporcional entre as a inatividade física e a resposta bioquímica glicêmica de repouso. Contudo não foram aplicados teste de correlação estatística. Assim, podemos concluir que a prática regular da atividade física proporciona alterações metabólicas responsáveis pela melhora dos padrões bioquímicos séricos de glicose. Entre elas um provável aumento da sensibilidade tecidual a insulina em condições de repouso, apresenta-se como um foco eminente de estudo. Além disso a viabilização do fluxo membrânico de glicose por vias insulino-não-dependente, caracteriza-se como um significante fator de facilitação da metabolização da glicose e consequentemente caracteriza o exercício físico como um forte fator profilático da Diabetes tipo II.

38

ESTIMATIVA DOS LÍPIDES TOTAIS NO SORO BASEADA NAS DETERMINAÇÕES DE COLESTEROL E/OU TRIGLICÉRIDES.

Daniela S. Gruber[1]; Adriana Pinho-Pinto[2]; Maria Cristina Guerra[2]; Marcelo Kikuti[2]; Aguinaldo José Nascimento[3]; Marileia Scartezini[4]; Vânia M. Alcântara[4] e Geraldo Picheth[4]

[1].aluna do curso de Farmácia da UFPR; [2]. Laboratório Frischmann Aisengart; [3]. Depto. Bioquímica - UFPR e [4].Depto. Patologia Médica da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

A concentração dos lípides séricos está diretamente relacionada aos níveis de colesterol, triglicérides e fosfolípides na amostra. Estudamos através de análise de regressão, equações que possibilitem estimar os lípides totais através das concentrações séricas de colesterol e/ou triglicérides e desta forma substituir a determinação química pela sulfofosfovanilina, que apresenta elevada variabilidade analítica e utiliza reagentes corrosivos. Com amostras de soro de 112 indivíduos (51,2% do sexo feminino), duas equações para estimar os lípides totais séricos foram obtidas: lípides totais (mg/dL) = 1,145 x triglicérides + 452 (r^2 = 0,866) e lípides totais (mg/dL) = 1,0 x (colesterol total + triglicérides) + 287 (r^2 = 0,876). Quando os valores dos lípides totais quantificados pela sulfofosfovanilina foram comparados àqueles estimados pelas equações acima, utilizando como elementos preditores os triglicérides ou a soma destes com o colesterol total, não foram observadas diferenças significativas pelo teste "t" ($p \geq 0,99$) em ambos os casos. O erro na preditibilidade dos lípides totais presente nas equações apresentadas, "e menor que a imprecisão da determinação química pela sulfofosfovanilina. A utilização de um elemento preditor (triglicérides) ou dois (colesterol + triglicérides) mostrou resultados semelhantes no presente estudo.

39

***Eugenia jambolana* não melhora o *Diabetes mellitus* experimental.**

PEPATO, M.T.*; FOLGADO, V.B.B.*; RAMOS, E.*; LOURENZONI, A.O.*; KETTELHUT, I.C.** BRUNETTI, I.L.* *Depto de Análises Clínicas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP, R. Expedicionários do Brasil, 1621 - CEP 14801-902 - Araraquara - SP; **Depto. Bioquímica - FMRP - USP.

Apesar de várias plantas serem usadas popularmente no tratamento do diabetes, poucas foram investigadas cientificamente. Assim, neste trabalho estudamos o efeito do tratamento oral de ratos diabéticos com a infusão de ***Eugenia jambolana*** (Jambolão) sobre vários parâmetros frequentemente alterados no ***Diabetes mellitus***. A infusão de folhas (150 g/L) foi preparada a maneira popular a cada 2-3 dias e conservadas a 4º. Ratos Wistar machos foram tornados diabéticos por meio de administração endovenosa de estreptozotocina (STZ) (40 mg/Kg de peso). No 3º dia pós-STZ os animais foram pareados de acordo com os valores de peso corporal, glicemia, glicosúria e ingestão alimentar, sendo de 363 mg/dL o nível glicêmico médio observado. Os animais foram divididos em grupo experimental e controle, sendo a administração da infusão iniciada no 5º dia pós-STZ como substituto da água. Semanalmente foram determinados peso corporal, ingestão hídrica alimentar, volume urinário, glicemia, glicosúria e uréia urinária. O sacrifício ocorreu no 22º dia pós-STZ e 17º dia de tratamento, sendo o sangue coletado utilizado para a determinação de glicose plasmática, colesterol, triglicerídeos e da enzima conversora da angiotensina (ECA), assim como também foram isoladas e pesadas as gorduras epididimal e retroperitoneal, e os músculos ***Soleus*** e ***Extensor digitorum longus*** (EDL) e o pâncreas. Os resultados mostraram que a infusão de ***Eugenia jambolana*** não alterou nenhum dos parâmetros estudados, portanto não levando a melhoria do estado diabético nas condições utilizadas como acredita-se popularmente. Estudos anteriores realizados com ***Myrcia uniflora*** (Pedra-Hume-Caa) e metodologia experimental semelhante mostraram redução significativa da hipergagia, polidipsia, volume urinário, glicemia, glicosúria e uréia urinária. (Diabetes Research, v. 22, p. 49-57, 1993)

APOIO: PAP/FUNDAP

40

ESTUDO COMPARATIVO DA INCIDÊNCIA DE HIPERGLICEMIA EM IDOSOS SEGUNDO UNIDADE ASSISTENCIAL*

Pereira, J.V. ; Santos, H.B. ; Correia, J.S. - Universidade Federal da Paraíba.
CCS. DCF. Hospital Universitário Lauro Wanderley
CEP: 58051-970

RESUMO

Neste estudo foram analisados 934 idosos atendidos pelo PROAI divididos em três grupos, segundo a sua origem, para estudo da incidência de hiperglicemia.

Foi observado que 20,7% do total de idosos estudados apresentam hiperglicemia. Os idosos atendidos no ambulatório do HULW, apresentaram maior incidência (27%); os assistidos nos núcleos da PMJP (16,3%) e uma menor (15,7%) naqueles idosos assistidos nas entidades filantrópicas.

PALAVRAS - CHAVE: Idosos
Hiperglicemia

41

LEVANTAMENTO DAS DOSAGENS DE COLESTEROL TOTAL NOS PACIENTES ATENDIDOS PELO LAC DA UNIC

A. M. N. Monteiro
Dpto de Farmácia e Bioquímica - UNIC - Cuiabá - MT

Com o objetivo de analisar o nível de colesterol total de uma população do Sistema Único de Saúde, trabalhou-se com 1.656 casos, sendo 68,06% do sexo feminino e 31,94% do sexo masculino. Aos pacientes que portavam solicitação médica foi recomendado jejum prévio de no mínimo 12 horas. A metodologia laboratorial aplicada foi o método enzimático de Trinder. Em âmbito global encontrou-se um índice de 62,47 % com colesterol total igual ou menor a 200 mg/dl no sexo feminino, enquanto que este índice representou 65,03% dos casos no sexo masculino. Verificou-se maior incidência de hipercolesterolemia na faixa etária entre 50 e 59 anos em ambos os sexos. O aumento da hipercolesterolemia no sexo feminino foi significativo à partir dos 40 anos de idade, supondo-se como causa a baixa no nível de esteróides sangüíneos. Constatou-se também que os percentuais de hipercolesterolemia diminuem no sexo masculino dos 60 anos de idade até depois dos 70 anos e que no sexo feminino embora haja decréscimo entre 60 e 70 anos, voltam a crescer após os 70 anos. Esses resultados demonstram a importância das pesquisas relacionadas à area, para adoção de medidas preventivas que possam conter efetivamente a mortalidade provocada pelas doenças coronarianas.

Apoio: UNIC

42

"Comparação entre os valores de lipídeos e lipoproteínas de duas populações jovens, uma de indivíduos obesos e outra de não obesos"

Autores: Marta Rosangela Juncioni
Leda Teixeira Coelho
Stella Maria Guida
Tomaz G. Montero

RESUMO:

Foram comparados os resultados obtidos de colesterol total, triglicérides, HDL e LDL-colesterol, de uma população de indivíduos não obesos de 6-16 anos, com os apresentados em artigo de FISBERG et al. Neste artigo a população era de crianças: obesas de 6-10 anos, classificados como grandes obesos ou médios obesos, de acordo com a relação peso/estatura. O presente estudo comparou o perfil lipídico e lipoproteíco e presença dos fatores de risco para desenvolvimento de doenças vasculares no futuro para ambas as populações.

Os autores concluíram que: o grupo de crianças classificados como grandes obesos apresentam os fatores de risco que os predisõem ao desenvolvimento de doenças vasculares.

* Trabalho realizado no Laboratório Clínico do Hospital Universitário - USP

43

VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE CHUMBO SANGUINEO POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA (FORNO DE GRAFITE)

LAX, W. F.; MENDES, M.E.; MARTINS, D.I.; DODOPOULOS, M.C.; DINHANI, S.R.M.

Bio-Ciência/ Lavoisier - São Paulo - SP

As aplicações clínicas da dosagem de chumbo são importantes na toxicologia.
A validação do método para as dosagens de chumbo em amostra de sangue para fins de monitorização biológica de trabalhadores exposto é a proposta deste estudo.
A análise foi efetuada em sangue acidificado (HNO_3 0,2%) com adição de TRITON X-100 0,1% por espectrofotometria de absorção atômica empregando forno de grafite (Perkin - Elmer).
O limite de detecção observado foi de 0,5 µg/ dL, coeficiente de variação intraensaio de 1,4% e inter ensaio de 14,2%. O teste de recuperação por adição de padrão demonstrou uma captação de 95%

44

Avaliação da Osmolalidade Urinária pela medida crioscópica versus fórmula.

Maria Elizabete Mendes, Moacir Carlos de Sousa Júnior, Luciano César P. de Azevedo, Mauro Ventura .S. Filho, Antony Guerra. Gorski, Marco Aurélio S.Cordeiro, Ana Cristina Bussolini, Adriana Fran, Fernanda Donato, Ricardo M. de Oliveira e Nairo M. Sumita.
Serviço de Bioquímica Clínica- DLC- HCFMUSP e Laboratório Biociência Lavoisier

A medida da osmolalidade urinária permite uma avaliação fidedigna da capacidade de concentração renal. Entretanto devido a um número pouco significativo de solicitações na rotina laboratorial, somente pequeno número de laboratórios possuem equipamento capacitado a realizar a medida deste parâmetro. Foram analisados amostras urinárias de primeira micção de 100 pacientes. Baseando-se na avaliação da densidade urinária (refratometria) empregou-se uma fórmula matemática onde multiplicou-se os dois dígitos finais por 33, artifício este utilizado para estimar o valor da osmolalidade urinária. Para fins comparativos utilizou-se a crioscopia , sendo o resultado expresso em mOsm/Kg de H_20. Os resultados demonstraram moderada correlação entre as metodologias estudadas.

	Fórmula(mOsm/Kg de H_20)	Crioscopia (mOsm/Kg de H_20)
Média	683	675
Desvio Padrão	208	207
N= 100 pacientes		

Equação da Regressão linear: y= 176 + 0,730x r^2=0,536
sendo x=crioscopia e y=fórmula

Coeficiente de correlação r=0,732

45

Frequência da hiperfenilalaninemia no Serviço de Bioquímica Clínica - DLC-HCFMUSP.

Maria Elizabete Mendes, Moacir Carlos de Sousa Júnior, Atecla Nunciata L. Alves, Lia Marques de Oliveira Lavorato, Luiz Mário Alves da Silva, Clóvis S. Goussain, Ricardo M. Oliveira e Nairo M. Sumita

Serviço de Bioquímica Clínica- DLC- HCFMUSP .

O Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central - HCFMUSP, realiza a triagem para detecção da hiperfenilalaninemia pela técnica de Guthrie, sendo que desde 1992 foram triados 5800 casos. Neste período foi observado um caso onde a concentração sanguínea ultrapassou o nível de 4 mg/dL, sendo a amostra do recém nascido colhida na região do calcâneo, em papel de filtro específico, com três dias de vida. Posteriormente, o método imunoenzimático veio a confirmar a real concentração que apontava nível de 20,8 mg/dL, O diagnóstico precoce permitiu o encaminhamento da paciente a um serviço especializado permitindo um controle eficaz dos níveis anormais de fenilalanina. Embora a hiperfenilalaninemia tenha incidência relativamente baixa na população infantil , sua triagem é pefeitamente justificada pela possibilidade de intervenção precoce, permitindo um desenvolvimento absolutamente normal da criança, mediante dieta controlada. A frequência de positividade desta moléstia em nosso Serviço está em conformidade com àqueles descritos na literatura.

46

Comparação de dois métodos para dosagem da fenilalanina sanguínea: fluorométrico e espectrofotométrico.

Willian F. Lax, José Roberto Ferreira, Nairo M. Sumita e Maria Elizabete Mendes

Laboratório Biociência Lavoisier - Bioquímica Clínica.

A pesquisa obrigatória da fenilcetonúria (PKU) em recém-natos proporcionou o desenvolvimento de métodos diagnósticos rápidos, práticos, aliados a resultados altamente confiáveis. Em substituição ao procedimento manual microbiológico (Guthrie), surgiram metodologias passíveis de adaptação a sistemas automatizados e semi-automatizados. Este trabalho tem como finalidade comparar a dosagem pelo método fluorométrico (Technicon Auto Analyzer) com o espectrofotométrico (colorimétrico - enzimaimunoensaio).
Foram estudados 96 recém-natos, cuja amostra sanguínea foi colhida por meio da impregnação em papel de filtro (SS 903), o qual foi picotado na forma de um pequeno disco e eluído em água destilada (fluorometria) e ácido tricloroacético a 3% (espectrofotometria). Os resultados pelos métodos fluorométrico e espectrofotométrico foram respectivamente $1,35 \pm 0,60$ mg/dL e $1,40 \pm 0,53$ mg/dL. A análise de variância demonstrou não haver diferença estatisticamente significante entre as metodologias estudadas ($p<0,05$).

47

CONTROLE FÍSICO-QUÍMICO DO LEITE DE DOADORAS DO BANCO DE LEITE HUMANO DA MATERNIDADE-ESCOLA ASSIS CHATEAUBRIAND

Maria Marly Lopes Vieira Peixoto & Kediman Celis Barros Bastos
Matern.Escola Assis Chateaubriand - UFCE

A gordura é o componente mais variável do leite humano. As concentrações de gordura passam de aproximadamente 2 gramas/100ml no colosto para 4 gramas/100 ml no leite após 15 dias. Podem variar também na mesma mamada. Em algumas mulheres a concentração de gordura do leite no final da mamada é 04 a 05 vezes maior que no início da mesma, critério importante na avaliação físico-química do leite humano ordenhado.

O nosso estudo consistiu em acompanhar a coleta de leite de 35 doadoras com o objetivo de relacionar o momento da ordenha com o teor de gordura e conteúdo energético do leite humano ordenhado.

Usamos a técnica do crematócrito descrita por Lucas e Cols (1978), e adaptada pelo Banco de Leite Humano da FIOCRUZ.

UNITERMOS: ORDENHA
VALOR NUTRICIONAL
BANCO DE LEITE

48

DETERMINAÇÃO DE APOLIPROTEÍNAS A-I, B-100 E PERFIL LIPÍDICO EM IDOSOS

Santos, H.B. ; Pereira J.V. - Universidade Federal da Paraíba. CCS. DCF. Hospital Universitário Lauro Wanderley.
CEP: 58.051-970

RESUMO

Foram determinadas Apoproteínas A-1, B-100 e perfil lipídico em 292 idosos de ambos os sexos atendidos no ambulatório HULW.

De maneira geral, os pacientes apresentaram as seguintes características: hipercolesterolemia pura - 25%; hipertrigliceridemia pura - 11,6%; hiperlipemia mista - 36%; elevação de C-LDL (colesterol de baixa densidade) - 49,6%; diminuição de C-HDL (colesterol de alta densidade) - 36%; elevação de Apo B - 38% Apo A normal - 93,5% e Apo A diminuída - 4,4%. Do total de idosos, foram encontrados 5,8% com CT (colesterol total) normal e Apo B elevada.

PALAVRAS-CHAVE: Idosos, hiperlipemia, apoliproteínas A-1 e B-100.

49

ESTUDO DOS NÍVEIS DE ENZIMAS SÉRICAS EM ALCOÓLATRAS E ALCOÓLATRAS EM RECUPERAÇÃO NA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO HEPÁTICA.

Geny A.Cantos, G.A[1]; Cirene L. Delgobo[1]; Elizabeth M. Hermes[2].; Elton Massarolo[3].; Lilian M. da Silva Bodemmuller[4]; Norma C. Rodrigues[5].; Lúcia G. Gobatto[6]. ([1]Prof. do Depto de Análises Clínicas -CCS,UFSC; [2]Farmacêutica-Bioquímica do Laboratório de Patologia do Hospital Universitário; [3] Aluno de Iniciação Científica , Depto de Análises Clínicas, UFSC.; [4] Enfermeira do Hospital Universitário, DSHST, UFSC.; [5]Médica do Hospital Universitário, DSHST, UFSC; [6]Assistente social, DSS, UFSC.

As dosagens de enzimas séricas (aspartato aminotransferase - AST, alanina aminotransferase - ALT e fosfatase alcalina - ALP) constituem um dos indicadores de lesão hepática celular. A gama glutamiltransferase (Gama-GT) tem sido usada como importante marcador para detectar a ingestão do álcool, com ou sem hepatopatia. Neste trabalho determinou-se os níveis séricos dessas enzimas, considerando que em decorrência do uso abusivo do álcool, os alcoólatras ou alcoólatras em recuperação, possam ter alterações enzimáticas significativas, que poderiam contribuir para o diagnóstico ou acompanhamento do nível da atividade da doença hepática em um determinado paciente. Trabalhou-se com 3 diferentes grupos: o controle, os alcoólatras em recuperação e os alcoolátras. Foi observado que somente os alcoólatras apresentaram, na sua maioria, aumento expressivo da Gama-GT, mostrando, assim, essa enzima importante na monitoração da resposta ao tratamento de alcoólatras em recuperação. A relação AST/ALT foi inferior a 1 no grupo controle e nos alcoólatras em recuperação e superior a 1 na maioria dos alcoólatras. Essa inversão na relação AST/ALT nos alcoólatras foi sugestiva de que a doença hepática possa estar em desenvolvimento nesses pacientes. Não foi encontrado alterações nos níveis da fosfatase alcalina em nenhum dos grupos analisados. Esse estudo vem demonstrar que o uso abusivo de álcool, causa alterações variáveis nos níveis de enzimas séricas, e que estas são indicadores importantes na avaliação hepática.

50

ALTERNATIVAS PARA A ELIMINAÇÃO DA INTERFERÊNCIA NEGATIVA DA BILIRRUBINA NA DOSAGEM DE CREATININA POR APARELHOS AUTOMATIZADOS.

Joíza Lins Camargo, Maurício Silveira do Prado, Magda Comoreto Gall, Maria Luiza Brizolara, Rosana Maria Bauer Pereira & Elaine Ottoni Braga Barreiro.

A interferência negativa da bilirrubina na dosagem de creatinina pelo método de Jaffé é bem documentada. Para estudarmos esta interferência nos autoanalisadores Cobas Mira® (Roche) e Merck-Mega® (Diagnóstica Merck), ferricianeto de potássio [$K_3Fe(CN)_6$] foi usado para oxidar a bilirrubina à biliverdina. Trinta amostras de soro, com diferentes níveis de icterícia (bilirrubina total = 6,9 ± 6,5, média ± desvio padrão), foram analisadas para creatinina, em ambos aparelhos, antes e depois de serem tratadas (1:1) com uma solução de $K_3Fe(CN)_6$ 3 mmol / L, usando o método de Jaffé de ponto final. Em paralelo, $K_3Fe(CN)_6$ 3 mmol/L foi adicionado ao reagente de Jaffé (1:6,5) para ser usado no Cobas e a diluição automática ("rerun mode") de amostra sem tratamento prévio foi usada no Mega como procedimentos alternativos de eliminação da interferência. Estes procedimentos foram comparados com o procedimento de tratamento prévio da amostra com $K_3Fe(CN)_6$. Os valores de creatinina antes do tratamento variaram de 0,2 a 9,4 (1,8 ± 1,9) mg/dl e de 0,5 a 9,5 (2,1 ± 2,2) mg/dl para Cobas e Mega, respectivamente. Após tratamento, os valores variaram de 0,4 a 10,6 (2,4 ± 2,2) mg/dl para ambos aparelhos. Houve diferença significativa entre os valores de creatinina pré e pós-tratamento ($p<0,0001$). Não houve diferença significativa entre os valores pós-tratamento obtidos pelos dois aparelhos. A interferência negativa variou de 0,1 a 3,4 mg/dl no Cobas e de 0,0 a 0,8 mg/dl no Mega. O erro relativo variou de 7 a 75% e de 0 a 37% no Cobas e Mega, respectivamente. O aumento de creatinina após tratamento foi independente da concentração de bilirrubina na amostra ($r=0,16$ e $r=0,19$, $p>0,1$, para Cobas e Mega ,respectivamente). Quando diferentes concentrações de creatinina foram adicionadas em um "pool" de soro e amostras foram tratadas previamente com $K_3Fe(CN)_6$, aproximadamente 95% de recuperação foi alcançado. Valores de creatinina obtidos com $K_3Fe(CN)_6$ adicionado ao reativo de Jaffé do Cobas e amostras dosadas em "rerun mode" no Mega mostraram excelente correlação e concordância com os resultados obtidos com amostras pré-tratadas dosadas em ambos aparelhos ($r=0,97$ e $r=0,99$, $p<0,0001$).O reativo adicionado de $K_3Fe(CN)_6$ mostrou-se estável até 5 horas após preparação. Nós sugerimos que amostras ictéricas sejam dosadas com $K_3Fe(CN)_6$ adicionado ao reativo de Jaffé no Cobas e em "rerun mode" sem tratamento prévio no Mega para eliminar a interferência negativa da bilirrubina.

51

COMPARAÇÃO DE DOSAGENS DE GLICOSE EM PLASMA E SORO POR ENSAIO ENZIMATICO - COLORIMETRO

LAX, W. F; OLIVEIRA,E.P., PAREDE, V.; MENDES, M.E.; DIAMENT, D.
Bio-Ciência/ Lavoisier - São Paulo - SP

Os benefícios trazidos pelo novo analisador (Mega-Merck) introduzido na rotina diagnostica, foram otimizados com a mudança de plasma fluoretado para soro colhido em tubo com gel separador (Becton-Dickinson) nas dosagens de glicose.

Compararam-se 117 amostras (pacientes em jejum) de plasmas fluoretados (GPT0) com soros nos tempos zero (GTS0) e 24 horas (GST24) após a coleta do material, além dos soro entre si (zero e 24 horas).

Os soros foram colhidos em tubos com gel separador (SST, inerte), centrifugado imediatamente e armazenados entre 4 - 8ºC antes da sua análise. O mesmo ocorrendo com os plasmas fluoretados.

Na amostra havia materiais lipêmico, ictéricos e hemolisados.

A correlação entre plasma e soro no tempo zero ($r = 0.9633$) e GPT0xGST24 ($r = 0.9643$) associada ao teste t com amostras pareadas (GPT0xGST0;GSoxGST24; GPOxGST24) e ao teste F (GPT0xGS24 e GPT0 xGST0) validaram a proposta de mudança.

52

Estudo e normatização da análise gasométrica no Hospital Universitário Regional de Maringá-HUM*

Luiz Roberto Bigão Giacomelli[1] & Cláudio Arantes[2]

RESUMO - Dos exames laboratoriais que subsidiam o clínico perante as situações de emergência, a análise gasométrica (gasometria) se pronuncia como um dos testes mais importantes, sendo responsável, face aos dados que fornece, pela determinação diagnóstica e terapêutica naquelas condições que envolvem o desequilíbrio ácido-básico. Os autores, efetuando análise de 538 gasometrias, que ocorreram no HUM - Hospital Universitário Regional de Maringá, no período de janeiro/95 a maio/96, analisaram os elementos de interferência na realização do exame, desde a obtenção das amostras até a interpretação dos resultados, e também buscam avaliar a realização das dosagens gasométricas no laboratório do HUM, atendendo a uma necessidade interna de majorar a qualidade dos serviços oferecidos enquadrando este enfoque como uma iniciativa de normatização dos POPs (Procedimentos Operacionais Padrão) aliados a um Programa de Garantia da Qualidade.

* Trabalho realizado no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Regional de Maringá.
1 - Farmacêutico Bioquímico - Laboratório de Análises Clínicas - HUM - Maringá.
2 - Acadêmico do Curso de Medicina - Universidade Estadual de Maringá.

53

TÍTULO DO TRABALHO- Estudo do Perfil Glicêmico de Jejum em 3.500 pacientes, relativo a padrões de diferentes faixas de concentrações de glicose.

Autores - COUTINHO, I.M.P. e MEDEIROS, N.B.
Instituição - Laboratório Central de Saúde Pública "DR. MILTON BEZERRA SOBRAL" / PE (LACEN)
Endereço - Praça Osvaldo Cruz S/N, Boa Vista-Recife-PE
Especialidade - BIOQUÍMICA CLÍNICA

RESUMO - O estudo feito nos 3.500 pacientes de diferentes faixas etárias e organizados em faixas de concentrações de elevações leve, moderada e acentuada de glicose, confirma que a prevalência se dá em pacientes acima de 40 anos e que o maior índice destes, se concentrou na faixa de alteração leve, considerada de 110 a 135mg/dl.

54

LDL-COLESTEROL, determinação pela equação de Friedewald e por método direto:análise comparativa. Dpto. de Análises Clínicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Cx. postal:1945 Porto Alegre/RS Brasil. PELLINI,V.B.; ALVARENGA, R. B.; UGGERI, C.S.

Estudos longitudinais demonstraram haver relação entre os valores de colesterolemia e doença coronária. O papel do Laboratório de Análises Clínicas no fornecimento de resultados precisos engloba a avaliação das novas metodologias disponíveis no mercado. O valor de LDL-Colesterol segundo consenso nacional e internacional é de fundamental importância para o diagnóstico e monitoramento da hipercolesterolemia.

Este estudo apresenta os resultados de LDL-Colesterol de indivíduos adultos avaliados por duas metodologias: a tradicional equação de Friedewald e o método direto de determinação do colesterol enzimáticamente, após precipitação da amostra com polivinilsulfato kit comercial (Boehringer Mannheim). A análise de regressão mostrou haver uma boa correlação entre os dois métodos ($p< 0,05$) Os resultados por ambos os métodos não revelaram dados conflitantes, a melhor correlação, quando observado os níveis de triglicerídeos situou-se na faixa de valores < 200mg/dl, entretanto a correlação declina significativamente na faixa de 300 a 399mg/dl r=0,79 e é perdida em valores acima de 400mg/dl nível referido como a principal limitação dos métodos. Podemos concluir que os dois métodos se equivalem para indivíduos com trigliceridemia desejável < 200mg/dl, embora não tenhamos feito a comparação com o método de referência para valores entre 300 e 399mg/dl devemos ficar atentos com a precisão dos resultados. Quando a única solicitação do clínico for a determinação de LDL-Colesterol sem o perfil lípidico completo , o método direto pode ser uma alternativa mais econômica

Apoio : FAPERGS ; PROPESQ / UFRGS

55

HbA1c e Glicemia de Jejum - Correlação no Diabetes Mellitus.

SANTOS, M.G.N.; SOUZA,Z.M.; BRTO, T.N.S.; MONTE,A.A.L.; OLIVEIRA,D.M.C.N. e SOUZA, J.C.A.

Trabalho baseado em uma amostra populacional de pacientes atendidos no Hospital Universitário Onofre Lopes(H.U.O.L.)e Hospital Regional Lindolfo Vidal no Município de Santo Antônio-RN constituído de 53 pacientes com diabetes mellitus, sendo 38 do sexo feminino e 15 do sexo masculino numa faixa etária compreendida entre 1 e 80 anos,dentre estes 13 pertenciam ao grupo diabéticos insulino-dependente ou tipo I,40 pertenciam ao grupo de diabético não insulino-dependente ou tipo II e 22 pertenciam ao grupo de indivíduos considerados normais sendo 16 do sexo feminino e 6 do sexo masculino numa faixa etária compreendida entre 20 - 60 anos de idade os exames foram realizados no laboratório integrado de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia no período de Maio a novembro de 1996 cujo objetivo foi correlacionar a glicemia de jejum com a hemoglobina glicosilada no diabetes mellitus e grupo de controle utilizando-se as seguintes variáveis: sexo,faixa etária,antecedentes familiares,glicemia HbA1c e tipo de diabetes. Dentre estas estudadas, observou-se que a maior prevalência ocorreu no sexo feminino, o diabetes tipo II foi o de maior incidência na população estudada ocorrendo um percentual maior na faixa etária compreendida entre 50-80 anos, já o tipo I ocorreu um maior percentual entre 10 - 20 anos e a maioria dos pacientes estudados tinham antecedentes familiares diabéticos. Os níveis da hemoglobina glicosilada não sofreram influência de nenhuma das varáveis citadas acima e a maioria dos pacientes encontraram-se com um ótimo controle quando observado este parâmetro bioquímico. A correlação entre a hemoglobina glicosilada e a glicemia foi estabelecida, assim como a média e o teste "t". Os dados obtidos permitiram concluir que a hemoglobina é útil para o diagnóstico e controle do "Diabetes Mellitus".

56

COMPARAÇÃO DA TESTOSTERONA TOTAL NO SORO POR RADIOIMUNOENSAO E ENSAIO POR QUIMIOLUMINESCÊNCIA. Pessoto MC, Hirata RT, Haber EP. Laboratório Bio-Ciência/Lavoisier, São Paulo, Brasil.

Ensaio por quimioluminescência competitivo não-radioativo (SistemaACS:180), usando o marcador ester de acridina, e radioimunoensaio (RIE) para Testosterona Total foram comparados. Os parâmetros para a seleção da melhor técnica incluiram exatidão, precisão, sensibilidade, tempo do ensaio e eficiência de custo. O Sistema ACS:180 para determinação da Testosterona Total foi melhor em exatidão e precisão que o RIE. O coeficiente de variação (CV), determinado por análise repetitiva das amostras, foi menor que 5% na análise da Testosterona por ACS:180, enquanto os obtidos por RIE foram aproximadamente 10%. O limite de detecção mínimo da Testosterona Total obtido por ACS:180 foi melhor que por RIE. A comparação mostrou excelente correlação linear entre as duas técnicas de ensaio (o coeficiente de correlação foi de 0,98). Todos esses parâmetros apontam para uma boa correlação linear. O tempo total de ensaio no RIE é de 5-6 horas. No Sistema ACS:180, um conjunto de 180 amostras pode ser dosado em uma hora, incluindo a contagem da amostra. Com referência a eficiência de custo, análise cuidadosa revelou quase o mesmo custo por teste em ambos os procedimentos analíticos. O Sistema ACS:180 é moderno, totalmente automatizado, livre de radiação e a meia-vida do kit é maior. As desvantagens do RIE são a relativamente curta meia-vida do kit e a dificuldade para desprezar o lixo radioativo. Mantendo todos os méritos e deméritos de cada sistema em mente concluiu-se que o Sistema ACS:180 é melhor na análise da Testosterona Total.

57

AVALIAÇÃO LABORATORIAL DA ANEMIA FERROPRIVA EM PACIENTES AMBULATORIAS NA CIDADE DE C. GRANDE - PB - MARGARETH CRISTINA FREITAS[1], MARIA DE ASSIS SARAIVA[2], PAULA ANGELA Mª DE SÁ LIRA BRAGA[3]

A anemia é uma síndrome crônica comum em medicina, tendo sua elevada prevalência liderada pela anemia ferropriva, constituindo-se num problema mundial de saúde pública. Acredita-se que 20% da população mundial não tem reservas de ferro extra-hemoglobínica no organismo. Laboratorialmente, a anemia ferropriva cursa com eritrócitos hipocrômicos e microcíticos. O déficit de ferro no organismo afeta primeiro, a síntese de hemoglobina e em seguida, em menor intensidade a formação das hemácias, justificando desta forma, a não alteração quantitativa dos eritrócitos na maioria das ferropenias. O hematócrito apresenta-se diminuindo porém, a redução da concentração hemoglobínica das hemácias é a alteração mais característica. Há uma diminuição do ferro sérico, associada a um aumento da capacidade de fixação do ferro à transferrina e uma redução do índice de saturação do ferro. Neste trabalho, foram estudadas amostras de 200 pacientes de ambos os sexos (adultos e crianças), procedentes da Diagnose - Clínica de Análises Especializadas - Campina Grande - PB; objetivando-se avaliar alguns parâmetros usados rotineiramente para o diagnóstico laboratorial da anemia ferropriva, onde constatou-se maior incidência em pacientes adultos do sexo feminino.

(1) DIAGNOSE - CLÍNICA DE ANÁLISES ESPECIALIZADAS LTDA
(2) CCBS/DMISP - CAMPUS II - UFPB
(3) CBS/LAC - UEPB

58

DETERMINAÇÃO DOS FRAGMENTOS 1 + 2 DA PROTROMBINA: UM AVANÇO NA AVALIAÇÃO DOS ESTADOS DE HIPERCOAGULABILIDADE.

Carvalho, Maria das Graças [1] & Francis, J.L. [2] 1 - Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - Faculdade de Farmácia da UFMG - 2 - Departamento de Hematologia - Universidade de Southamptom - Inglaterra.

Os estados de hipercoagulabilidade podem ocorrer circunstancialmente (traumas, gravidez e puerpério, obesidade, hipercolesterolemia, imobilização, estados inflamatórios e pós-operatório, hipertensão, neoplasias) bem como devido a fatores genéticos tais como: deficiência de proteína C ou S; deficiência de antitrombina III, ou ainda por defeito no Fator V (Fator V-Leiden) gerando a chamada Resistência à Proteína C ativada. Independente da causa que acarretou o estado de hipercoagulabilidade, há ativação do mecanismo da coagulação culminando com uma maior formação de fibrina, sendo que a conversão da protrombina em trombina ativa com liberação dos fragmentos 1 + 2, constitui o evento principal durante a ativação do mecanismo da coagulação. A determinação dos fragmentos 1 + 2 da Protrombina tem aplicação no diagnóstico dos estados de hipercoagulabilidade ou eventos trombóticos já que elevados níveis foram detectados em pacientes com tromboses, embolismo pulmonar, CID, politrauma, septicemia e em pacientes com deficiência de proteína C ou S. O presente estudo teve como objetivo determinar os níveis dos fragmentos 1 + 2 em plasma de pacientes com doenças inflamatórias e câncer de mama e intestino. Ambos os grupos apresentam resultados significativamente superiores comparados aos controles normais, bem como comparados entre si ($P<0,02$). A detecção laboratorial das condições de hipercoagulabilidade ocorrendo antes da trombose clínica é de extrema importância pois tem potencial valor para identificar aqueles indivíduos que podem se beneficiar da profilaxia. Portanto, estudos dessa natureza devem se extender aos grupos de risco para desenvolver doenças tromboembólicas visando uma avaliação do real valor desse teste nas condições de hipercoagulabilidade.

Fonte Financiadora: CNPq

59

Hemoglobinopatias em recém-nascidos de Assis, estado de São Paulo.

Firmino Alvares Filho*; Luis Carlos de Mattos**; Haroldo Wilson Moreira***
*FCL- UNESP - Assis - SP.; **FAMERP - S.J. Rio Preto - SP; *FCF-UNESP - Araraquara - SP.
Depto de Análises Clínicas/Fac. Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP. R. Expedicionários do Brasil, 1621/ 14801-902 - Araraquara - SP - Brasil/ Cx.P. 502.

Com o objetivo da detecção precoce de hemoglobinopatias, foram analisadas 908 amostras de sangue de cordão de recém-nascidos da Santa Casa de Misericórdia de Assis, estado de São Paulo. As amostras foram submetidas ao teste de fragilidade osmótica a 0,36%, verificação das alterações morfotintoriais dos eritrócitos em esfregaço corado, hematócrito, eletroforeses alcalina e ácida e pesquisa de corpos de inclusão, típicos de hemoglobinas H e de Bart. Os exames laboratoriais detectaram 36 casos de portadores de hemoglobinas anormais variantes estruturais (3,96%), distribuidos nos seguintes genótipos: Hb AS (3,30%), Hb SS (0,22%) e Hb AC (0,44%), além de 24 casos de portadores de Hb de Bart (2,64%) e um caso de PHHF, observado em um indivíduo que, quando recém-nascido apresentava quantidade bastante reduzida de Hb A_1. Os portadores tanto de Hb S como de Hb C são mais frequentes entre filhos que apresentam pelo menos um dos pais negróide, compreendendo 80,55% dos casos encontrados. Considerando os portadores de Hb de Bart, a frequência encontrada foi de 0,5% quando ambos os pais são caucasóides, 6,66% entre filhos de pais caucasóides e negróides de 7,31% quando ambos os pais são negróides. Os estudos populacionais de hemoglobinas anormais e recém-nascidos permitem o diagnóstico em idades iniciais, oferecendo a oportunidade de acompanhamento médico especializado aos portadores, além de orientação e educação familiar.

Apoio financeiro: FUNDUNESP.

60

Associação das estruturas conformacionais de bases (frameworks) e talassemias do tipo beta observadas na população brasileira.

Haroldo Wilson Moreira*; Cristina Marta de Oliveira*; Luis Carlos de Mattos**; Firmino Alvares Filho***; Adriana Gomes Pistori*; Sally Cristina Moutinho Monteiro*.
* FCF-UNESP - Araraquara - SP; ** FAMERP - S.J. Rio Preto - SP; *** Depto. Ciências Biológicas/FCL- UNESP - Assis - SP.
Depto de Análises Clínicas/Fac. Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP. R. Expedicionários do Brasil, 1621/ 14801-902 - Araraquara - SP - Brasil/ Cx.P. 502.

Como parte de um programa contínuo de verificação de possíveis associações entre sistema polimórficos humanos e patologias, no presente trabalho foram avaliadas as frequências das diferentes seqüências conformacionais de bases, denominadas de framework, nas talassemias do tipo beta mais comumente observadas na população brasileira. Assim, foram analisados 70 indivíduos portadores de beta talassemias, sendo, 35 mutações codon 39 (C->T), 18 na IVS1-110 (G->A), 10 na IVS1-6 (T->C) e 7 na IVS1-1 (G->A). Nestes procedeu-se a extração do DNA de leucócitos, seguida da amplificação gênica (PCR) estendendo-se no gene beta globina da posição IVS1 nt 46 a IVS2 nt 126 (474 pb) e a análise do produto amplificado por um sistema de eletroforese em gel contendo gradientes desnaturantes (DGGE). Nesta população os resultados mostraram maiores frequências do framework 1-1 nas codon 39 e a IVS1-110, do framework 1-3 na IVS1-6 e o framework 1-2 na IVS1-1. Esses resultados, além de evidenciar a validade do método da PCR associada a DGGE para esse tipo de análise, direcionam para a importância do estudo das associações entre esses sistemas e patologias, no direcionamento de análises populacionais e aconselhamento genético de portadores e casais de risco.

Apoio financeiro: FCF-UNESP

61

TÍTULO: DOSAGEM DE FERRITINA SÉRICA EM PACIENTES POLITRANSFUNDIDOS ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO DO HEMOCE (Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará) - FORTALEZA. AUTORA: Denise Teixeira de Menezes. COLABORADORES: *Dr.Gentil Chutino de G.Neto, Drª Luciana Maria de B.Carlos, Drª Zilmar F.Silva, Drª Maria de Nazaré M.Rocha.* LOCAL DE REALIZAÇÃO: HEMOCE (Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará). ENDEREÇO: Av.José Bastos nº 3390 Porangabuçu. Fortaleza-CE. ESPECIALIDADE: Hematologia (5). RESUMO:

Foram determinados os níveis de Ferritina Sérica em 30 pacientes politransfundidos (considerando-se a partir da terceira transfusão do ambulatório do HEMOCE (Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará). O período de coleta compreendeu outubro/96 à janeiro/97. Utilizando como método o teste radioimunoensaio/COAT-A-COUNT FERRITIN IRMA. O resultado das dosagens de Ferritina Sérica nesses pacientes, demonstraram que 4 (14%) embora politransfundidos ainda se encontram com níveis normais, 16 (53%) encontram-se com níveis de Ferritina elevados porém inferiores a 1000ng/ml e 10 (33%) encontram-se com níveis superiores a 1000ng/ml já indicando um quadro de hemocromatose. Baseados nesses dados podemos concluir que a terapia transfusional embora indispensável é também um risco para os pacientes, levando-nos a propor que eles sejam acompanhados com dosagens periódicas de Ferritina Sérica, além de ser necessário um protocolo para profilaxia e tratamento da hemocromatose. FONTE FINANCIADORA: HEMOCE.

62

Caracterização de Cefalinas Comerciais em Determinações do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA)

Fabiana B. Muccillo[1], Israel Roisenberg[2] , Liane M. Röhsig[3], João P. E. M. Pereira[3], Elisa C. Azevedo[1], Daniela S. Baron[1], Nilo Ikuta[1], E. K. Marques[1,2]

[1]Laboratório UNINDUS - Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul;
[2]Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
[3]Laboratório de Homeostasia do Banco de Sangue do Hospital de Clínica de Porto Alegre

A cefalina é um reagente amplamente utilizado no monitoramento da terapia com anticoagulantes heparínicos. Nesse trabalho foi realizado um estudo comparativo analisando 7 cefalinas comerciais encontradas no mercado brasileiro.

Comparando-se as cefalinas em um "pool" de plasmas frescos heparinizados *in vitro* nas concentrações 0.07 à 0.5 UI heparina/ml, constatou-se que não houve coincidência numérica dos resultados. Verificou-se que quanto maior a concentração de heparina, os produtos apresentavam um aumento linear na relação dos tempos de coagulação (tempo alterado/tempo normal). A partir de 0.50 UI heparina/ml algumas amostras não coagularam no tempo limite pré-determinado de 120 segundos.

Comparando-se 5 plasmas controles comerciais (níveis 1, 2, 3), observou-se uma similaridade de tendência em relação ao experimento anterior nos plasmas de nível 1 (relações de 1.0-1.4). Nos plasmas alterados de níveis 2 e 3 observou-se uma inversão na linearidade de resultados entre alguns produtos.

Foram avaliados, ainda, plasmas de 19 pacientes anticoagulados com heparina. Verificou-se grandes discrepâncias entre os resultados obtidos, não observando nenhuma tendência entre os resultados.

Alguns fatores podem explicar as diferenças encontradas entre as cefalinas utilizadas nesse trabalho tais como: diferentes ativadores de contato, concentração de cefalina e ativadores, presença de outros anticoagulantes nos plasmas utilizados, interação com determinados medicamentos, etc. Neste estudo, fica reforçada a necessidade de uma padronização no emprego das cefalinas comerciais, afim de se obter maior segurança na terapia com anticoagulantes.

63

FREQUÊNCIA DE HEMOGLOBINAS ANORMAIS DETECTADAS EM DOADORES DE SANGUE DO HEMOCE

Maria Júlia da Silva[1], Alcínia Braga de Lima Arruda[2], Iêda Pereira de Souza[2]
1. Farmacêutica Bioquímica; 2. Professora de Hematologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Ceará.
Rua: Capitão Franscisco Pedro, 1210. Rodolfo Teófilo. CEP: 60.430-370.

As hemoglobinas consistem num conjunto de alterações na estrutura e síntese da molécula de hemoglobina resultando em um defeito genético, condicionando um aumento da morbidade, caracterizando uma entidade patológica definida. As cadeias polipeptídicas são sintetizadas sob controle genético, onde qualquer modoficação nesta síntese vai acarretar surgimento de hemoglobinas anormais, sendo as mais importantes as hemoglobinopatias e as talassemias, que são trasmitidas de pai para filhos obedecendo as leis mendelianas. Devido a grande miscigenação racial de nossa população, torna-se necessário a investigação sistemática para triar e identificar os portadores de hemoglobinopatias através de métodos como eletroforese. Realizamos um estudo sobre a frequência de hemoglobinas anormais em doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará.. Foram realizadas 240 amostras, compreendendo doadores de ambos os sexos, numa faixa etária de 18 a 60 anos de idade. Como metodologia foram utilizados testes seletivos (solubilidade de Itano) e de identificação (eletroforese em gel de ágar-amido, pH 6,2). Como exames complementares foram feitos, eritrograma com estudo do esfregaço para observação da morfologia das hemácias e contagem de reticulócitos.

De acordo com os resultados encontrados 7 doadores (2,82%) apresentaram hemoglobinas anormais, sendo 5 (2%) de hemoglobina AS; 1 (0,41%) de hemoglobina AC e 1 (0,41%) de hemoglobina AD, sendo 6 do sexo masculino e 1 do feminino.

64

ANÁLISE CLÍNICA E HEMATOLÓGICA DE 30 PACIENTES PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO WALTER CANTÍDEO - CEARÁ

Olivávia Gonçalves Segundo[1], Iêda Pereira de Souza[2], Alcínia Braga de Lima Arruda[2]
1. Farmacêutica Bioquímica; 2. Professora de Hematologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Ceará.
Rua: Capitão Franscisco Pedro, 1210. Rodolfo Teófilo. CEP: 60.430-370.

Estudamos 30 prontuários de pacientes portadores de Anemia Falciforme que utilizaram o serviço do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Walter Cantídeo - Ce, no período de 03/07/93 a 31/01/96.

Os prontuários destes pacientes foram estudados sob vários aspectos: em relação ao sexo, cor, idade, profissão, alterações laboratoriais e clínicas.

Os achados mais importantes foram:

- Ocorreu predominância de anemia falciforme nas mulheres com idade compreendida entre 11 e 20 anos.
- A drepanocitose acometeu principalmente pacientes de cor parda..
- Da população total houve predominância de domésticas e estudantes.
- Dentre as manifestações clínicas, as dores ósseas, dispnéias nos esforços e icterícia, foram os mais frequentes.
- Dos dados laboratoriais, constatamos que 93,4% dos pacientes tinham hemolgobina menor que 10,9 g/dL e 96,7% apresentaram hematócrito menor do que 34%.
- Em relação aos leucócitos obtivemos a presença de leucocitose em 56,7% dos pacientes, linfocitose em 66,7% dos pacientes e taxa de neutrófilos, eosinófilos e monócitos normais na maioria dos pacientes.
- Dos 30 pacientes estudados, 22 (73,3%) pacientes apresentaram reticulocitose e 18 (60%) trombocitose.

65

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES NO HEMOGRAMA COMPLETO DE PACIENTES COM DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE SEPSES

Marcia da Silva Santos[1], Iêda Pereira de Souza[2], Alcínia Braga de Lima Arruda[2]
1. Farmacêutica Bioquímica; 2. Professora de Hematologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Ceará.
Rua: Capitão Franscisco Pedro, 1210. Rodolfo Teófilo. CEP: 60.430-370.

Realizamos um estudo hematológico, com o objetivo de avaliar as alterações no hemograma completo, de pacientes com diagnóstico clínico de septicemia, internados na UTI da santa Casa de Misericórdia de Fortaleza.

Observamos que a leucometria, em 80% dos casos, mostrou-se aumentada; 70% apresentaram desvio à esquerda, acentuado; e em 80% foram encontradas granulações tóxicas finas ou grosseiras.

Outras alterações estruturais dos leucócitos foram relatadas, como vacúolos citoplasmáticos (26,6%) e neutrófilos hipersegmentados (16,6%).

A série vermelha mostrou-se alterada em (53,3%) dos casos, com valores de hematócrito, hemoglobina e hemácias, abaixo daqueles considerados normais.

Foram encontrados eritroblastos nos estágios ortocromáticos e policromáticos em apenas (6,6%) dos casos.

Anisocitose, anisocromia e policromasia foram as alterações eritrocitárias mais frequêntes.

66

PESQUISA DE HEMOGLOBINAS S EM UMA POPULAÇÃO ESTUDANTIL DE FORTALEZA - CEARÁ

Sandra Pereira dos Santos[1], Alcínia Braga de Lima Arruda[2], Iêda Pereira de Souza[2]
1. Farmacêutica Bioquímica; 2. Professora de Hematologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Ceará.
Rua: Capitão Franscisco Pedro, 1210. Rodolfo Teófilo. CEP: 60.430-370.

A molécula de hemoglobina (Hb) é formada pela globina (cadeias polipeptídicas denominadas alfa (α), beta (β), gama (γ) e delta (δ)) e pelo grupo heme (prostético). Existem os seguintes tipos de hemoglobina: HbA formado por duas cadeias alfa e duas cadeias beta ($\alpha_2\beta_2$); HbA_2 duas cadeias alfa e duas delta ($\alpha_2\delta_2$) e HbF duas cadeias alfa e duas gama ($\alpha_2\gamma_2$), sendo esta encontada nos últimos meses de gestação. As hemoglobinopatias constituem um grupo de doenças de natureza genética em que existe alteração da parte globínica. A Anemia Falciforme ou Drepanocítica é a mais frequênte destas doenças sendo caracterizada pela substituição do 6° aminoácido da cadeia polipeptídica β, o ácido glutâmico pela valina. O presente trabalho tem por objetivo verificar a incidência de Anemia Falciforme ou Traço Falcêmico em uma população de estudantes do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Ceará. Foram realizadas até o presente momento 58 amostras, compreendendo ambos os sexos, numa faixa etária de 18 a 48 anos. As amostras de sangue foram analisadas utilizando-se como metodologia teste seletivo (solubilidade de Itano) e de identificação (eletroforese em gel de ágar amido, pH 6,2) e tendo ainda o Eritrograma e Contagem de reticulócitos como exames complementares.

Até o momento os resultados encontrados foram; 2 estudantes (3,4%) apresentando hemoglobinas anormais, do tipo hemoglobina AS; sendo 1 do sexo feminino e 1 do sexo masculino.

67

PERFIL HEMATOLÓGICO DE PACIENTES QUE FAZEM TRATAMENTO DE QUIMIOTERAPIA NA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE FORTALEZA

Carlos Ely Costa Dias[1], Iêda Pereira de Souza[2], Alcínia Braga de Lima Arruda[2]
1. Farmacêutico Bioquímico; 2. Professora de Hematologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Ceará.
Rua: Capitão Franscisco Pedro, 1210. Rodolfo Teófilo. CEP: 60.430-370.

Realizamos um estudo hematológico em 100 pacientes que fazem tratamento de quimioterapia na Santa Casa de Misericórdia de Fortaleza com o intuito de detectar alterações na morfologia das hemácias, leucócitos e plaquetas. O nosso estudo baseou-se no hemograma completo (contagem de hemácias, hematócrito, hemoglobina, contagem global de leucócitos e diferencial) e contagem de plaquetas.

Os achados mais importantes foram: anisocitose em (26%); anisocromia em (20%), hipocromia (22%) e hemácias com alterações associadas do tipo normocrômicas e normocíticas (17%).

Em relação aos leucócitos obtivemos a presença de neutropenia em (29%), leucócitos sem anormalidades quantitativas em (21%), eosinofilia em (19%), linfocitopenia em (11%) dos casos investigados. E relacionado as plaquetas foi observado que (78%) tinham plaquetas qualitativamente e quantitativamente normais, (13%) trombocitose e (9%) trombocitopenia do total de casos investigados.

Concluímos que é importante uma avaliação hematológica contínua para um melhor acompanhamento desses pacientes.

68

AVALIAÇÃO DO SISTEMA COBAS VEGA ROCHE

Alexandre A. Becker, Almir Saleh, Rosana Medeiros & Suzel Zamim

Trabalho realizado no Laboratório Central, Setor de Hematologia, da Irmandade Santa Casa de Misericórdia, situada à Praça Dom Feliciano, s/n - Porto Alegre/RS.

OBJETIVO:
Este trabalho tem por finalidade uma avaliação preliminar da performance do sistema COBAS VEGA para hematologia implantado no Laboratório acima citado, em janeiro de 1997.

MÉTODOS:
Utilizou-se para este fim, a nova automação hematológica COBAS VEGA $V_{2.2}$ da empresa ROCHE, para avaliações diretas e para ensaios comparativos utilizou-se o sistema ARGOS 5 DIFF. Este trabalho preliminar seguiu um protocolo básico de testes que avaliam o sistema como um todo e consta dos seguintes itens: linearidade, precisão, carryover, comparabilidade, estabilidade, avaliação do sistema de homogeneização, resultados por modo automático comparados ao modo manual e contagem diferencial automatizada relacionada a contagem diferencial manual.

RESULTADOS:
Os resultados serão afixados no painel pré-determinado pela Comissão, sob a forma de textos, gráficos, tabelas, fotos, etc.

69

PERFIL DAS POPULAÇÕES HEMÁTICAS DE PACIENTES EM PROGRAMA DE DIÁLISE

Alexandre A. Becker , Almir Saleh, Rosana Medeiros & Suzel Zamim

Trabalho realizado no Laboratório Central, Setor de Hematologia, da Irmandade Santa Casa de Misericórdia, situada à Praça Dom Feliciano, s/n - Porto Alegre/RS.

OBJETIVO:
Este trabalho tem por finalidade fazer uma análise preliminar dos tipos de populações hemáticas encontradas em pacientes que regularmente encontram-se em programa de diálise determinando seu percentual e análise conjunta de índices hematimétricos tais como VCM e RDW.

MÉTODOS:
Utilizou-se neste trabalho a automação hematológica H_3 TECHNICON Bayer.

RESULTADOS:
Os resultados serão afixados no painel pré-determinado pela Comissão, sob a forma de textos, gráficos, tabelas, etc., se aceitos pela mesma.

70

DEFICIÊNCIA DE MIELOPEROXIDASE DETECTADA POR AUTOMAÇÃO HEMATOLÓGICA

Alexandre A. Becker, Almir Saleh, Rosana Medeiros & Suzel Zamim

Trabalho realizado no Laboratório Central, Setor de Hematologia, da Irmandade Santa Casa de Misericórdia, situada à Praça Dom Feliciano, s/n - Porto Alegre/RS.

OBJETIVO:
Este trabalho tem por finalidade mostrar um relato de caso de um paciente com deficiência de mieloperoxidase.

MÉTODOS:
Utilizou-se para este fim a automação hematológica H_1 TECHNICON Bayer e citoquímica para Peroxidase usando como substratos Benzidina e H_2O_2.

RESULTADOS:
A citoquímica negativa confirmou o achado de deficiência de mieloperoxidase conforme citograma emitido pela automação hematológica.

71

IMPORTÂNCIA DA APLICAÇÃO DE ANTICORPOS MONOCLONAIS NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS LEUCEMIAS LINFÓIDES AGUDAS.

Geraldo Barroso Cavalcanti Júnior, Raquel Ciavalschi Maia, Jane de Almeida Dobbin, Maria Kadma Carriço, Hansa Cabral Horab, Wilson Savino e Maria do Socorro Pombo de Oliveira.
Laboratório de Marcadores Celulares-INCA-RJ.

Foram realizadas imunofenotipagens em 126 pacientes portadores de leucemia linfóide aguda (LLA), com um painel de anticorpos monoclonais (AcMo) específico para leucemias agudas composto de: CD1a, CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD10, CD13, CD14, CD19, CD22, CD34, anti IgM, anti kappa, anti lambda, anti cadeia pesada "mü" e anti TdT. Paralelamente às amostras analisadas, foram obtidas informações sobre a idade e sexo, além de dados clínicos e laboratoriais tais como a presença de massas tumorais, linfadenopatia generalizada, hepatoesplenomegalias, infiltração leucêmica no sistema nervoso central (SNC), leucometria, análise citomorfológica (Classificação FAB) e colorações citoquímicas (Acido Periódico de Schiff, Fosfatase Ácida e Negro de Sudam). Os resultados demonstraram que 55 casos (43,6%) eram de LLA-T distribuídas nos subtipos *pré-T, T-intermediária* e *T-medular*, 60 casos (47,6%) foram LLA pré-B tais como LLA-*Null*, *Comum* e *pré-B* (cμ+) e 11 casos (8,7%) de *LLA-B* (SmIg+), as quais acometeram mais indivíduos do sexo masculino, independente da imunofenotipagem. Constatou-se também que as LLA de linhagem pré-B \ B incidiu mais em indivíduos com idade inferior a 15 anos, contrastando com as LLA-T que foram mais freqüentes em indivíduos mais velhos. Na análise da correlação destas leucemias com o aspecto clínico tumoral, observou-se uma maior incidência de LLA-T com presença de massas tumorais e infiltração leucêmica no SNC, as quais também apresentaram uma maior tendência à linfadenopatias e hepatoesplenomegalias que os demais subgrupos, correlacionando-se também estas leucemias com uma maior freqüência de hiperleucocitose e contagem elevada de células blásticas no sangue circulante. Correlacionando também estas lucemias com a classificação FAB, constatou-se-se uma correlação direta do subtipo mofologico L3 com as LLA-B (SmIg+) ao passo que os subtipos L1 e L2 mostraram-se mais freqüentes nas LLAs de linhagem pré-B e T, respectivamente. Com estes dados chamamos a atenção para a importância do emprego de AcMo no diagnóstico e acompanhamento da evolução prognóstica das leucemias, notadamente, nas formas agudas.

72

EOSINOFILIA SANGÜÍNEA EM PORTADORES DE PARASITOSES INTESTINAIS

Ligianne Revorêdo Bezerra, Lucia Marinho Medeiros de Albuquerque, Edna Marques de Araújo Silva, Julia Fernandes de Lima Nunes, Geraldo Barroso Cavalcanti Junior & Ana Cristina Correia da Silva.
Departamento de Análise Clínicas e Toxicológicas-UFRN.

Foi realizado um estudo objetivando avaliar a correlação da eosinofilia sangüínea em 99 indivíduos portadores de helmintíases intestinais. Os pacientes estudados consistiram de indivíduos de ambos os sexos, com faixa etária variando de 2 a 60 anos de idade, os quais foram examinados através de exames laboratoriais: 1) parasitológico das fezes seriado de três pelos métodos de Hoffman, Pons e Janer, Faust et cols e Baermann-Morais e 2) contagem de eosinófilos no sangue periférico realizada pelo leucograma convencional. Das 99 amostras examinadas, 48 (48%) foram positivos para um ou mais helminto e 51 (52%) negativos nos três métodos coproparasitológicos empregados. Nos 51 indivíduos com exame coproparasitológico negativo, a contagem de eosinófilos variou de 2 a 8%, com mediana de 4; já nos 48 indivíduos portadores de parasitoses, a eosinofilia variou de 1 a 44%, com 22 de mediana, estando as eosinofilias mais elevadas presentes em portadores de duas ou mais parasitoses assim como naquelas em cujo ciclo biológico dos parasitas ocorre a presença de migração dos mesmos através dos tecidos e corrente circulatória como o *Ascaris lumbricoides*, *Ancilostomídeos* e *Strongiloides stercoralis* quando comparada com as parasitoses cuja localização se limitavam a luz do aparelho intestinal os quais apresentavam uma eosinofilia mais baixa. Nestes pacientes observou-se ainda uma maior incidência de parasitoses em crianças (idade inferior a 15 anos), quando comparados com indivíduos adultos, notadamente na faixa etária compreendida entre 6-10 anos as quais apresentaram uma maior incidência de poliparasitismo e maiores percentuais de eosinófilos no sangue periférico. Com estes dados, nós sugerimos uma maior atenção na avaliação e interpretação de presença de eosinofilia sanguínea, chamando a atenção para presença de parasitoses como um importante fator de desencadeamento de eosinofilia em nosso meio, especialmente em pacientes pediátricos.

73

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE TÉCNICAS DE CONTAGENS DE EOSINÓFILOS

Ligianne Revorêdo Bezerra, Lucia Marinho Medeiros de Albuquerque, Geraldo Barroso Cavalcanti Junior & Ana Cristina Correia da Silva.
Departamento de Análise Clínicas e Toxicológicas (DACT)-UFRN.

Tradicionalmente a contagem de eosinófilos pode ser realizada pôr três métodos: 1) através de contadores automáticos os quais baseiam-se na detecção da peroxidade dos eosinófilos; 2) por métodos diretos, através de câmaras de contagem empregando um diluidor especifico para eosinófilos e 3) o método indireto através do tradicional leucograma. A contagem realizada por contadores automáticos apresentam grande precisão, porém, sua utilização é restrita a laboratórios que dispõem deste equipamento. O método direto apresenta boa sensibilidade e reprodutibilidade e o método indireto apesar da praticidade, apresenta variações devido a viscosidade ou aderência das células, impedindo a distribuição uniforme destas células no sangue circulante. Sendo a eosinofilia sanguínea uma importante alteração da fórmula leucocitária comumente observada em nossa região devido principalmente a alta prevalência de infecções parasitárias e doenças alérgicas, realizamos um estudo comparativo entre as técnicas de contagens de eosinófilos através de 2 metodologias distintas (método direto e método indireto), objetivando avaliar uma possível diferença nos resultados das contagens fornecidos por estes métodos. Foram analisadas no laboratório de hematologia do DACT 30 amostras de sangue periférico de indivíduos de ambos os sexos, com idade variando de 2 a 60 anos, portadores de patologias diversas. O método indireto consistiu do leucograma convencional e a contagem direta foi realizada na câmara de *Fuchs-Rosenthal* com sangue total previamente diluído no líquido de "*Hanmerson-Pilot*" na pipeta de Thoma para leucócitos. A análise comparativa das 2 metodologias empregadas demonstraram não haver resultados discordantes estatisticamente significativa entre as mesmas, ocorrendo, em geral, resultados mais elevadas no método direto quando comparado com os os resultados obtidos pelo método indireto, estando estes resultados condizentes com os obtidos da literatura que preconizam resultados mais elevados de contagem de eosinófilos pelo método direto quando comparado com o métodos indireto.

74

VARIAÇÃO LEUCOPLAQUETÁRIA EM PACIENTES COM CA DE MAMA E EM USO DE QUIMIOTERÁPICOS

Tania Maria Cavalcante Maia & Aurelia Lúcia Alencar Moreira
Matern.Escola Assis Chateaubriand - UFCE

A quimioterapia antineoplásica com a utilização de substâncias químicas isoladas ou associadas com o objetivo de tratar tumores malígnos, têm-se tornado uma importân - te e promissora forma de combate ao câncer.

É uma modalidade de tratamento sistêmico da doença que pode ser empregada com objetivo curativos ou paliativos dependendo do tipo e extensão da neoplasia e condi - ções físicas do paciente. No entanto, o ataque indiscriminado destas drogas tanto as células malígnas como as normais produz efeitos colaterais indesejáveis, o que torna necessário o monitoramento constante deste pacientes.

Este trabalho tem como objetivo a avaliação leucocitária e plaquetária das pacientes portadoras de CA de mama, atendidas no ambulatório de mastologia da Materni-dade-Escola Assis Chateaubriand e que foram submetidas à tratamento quimioterápico.

UNITERMOS: QUIMIOTERAPIA
LEUCOGRAMA
CA DE MAMA

75

PREVALÊNCIA DE TRAÇO FALCÊMICO EM RECEM-NASCIDOS NA MATERNIDADE-ESCOLA ASSIS CHATEAUBRIAND.

Tania Maria Alcante Maia, Aurelia Lúcia Alencar Moreira &
João Rodrigues Coelho.- Matern.Escola Assis Chateaubriand - UFCE

As hemoglobinopatias consistem num conjunto de alterações na estrutura e síntese da molécula de hemoglobina com resultado de um defeito genético que pode ser manifestado qualitativa e quantitativamente.

As variações qualitativas são causadas por anormalidades dos genes estru - turais responsáveis pela síntese das cadeias polipeptídicas da hemoglobina, altera - ções estas transmitidas geneticamente obedecendo às leis mendelianas.

Na população brasileira cuja principal característica é a grande miscige - nação com formação de grupos raciais, necessário se faz a investigação procede dos portadores de traços falcêmico (HbAS).

O presente estudo tem como objetivo o " screenig " de pacientes portado - res de HbAS, feito em recem-nascidos na Maternidade-Escola Assis Chateaubriand, uti - lizandos-se como método de triagem a prova de solubilidade pelo ditionito de sódio e a prova confirmatória pela eletroforese em acetato de celulose.

UNITERMOS: HEMOGLOBINA S
RECEM-NASCIDOS
HEREDITARIEDADE

76

PROGRAMA PREVENTIVO PARA HEMOGLOBINOPATIAS NO LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE DE CUIABÁ - UNIC

P. H. O. Calderan
Dpto de Farmácia e Bioquímica - UNIC - Cuiabá - MT.

O programa para a detecção de portadores de hemoglobinas anor-mais teve como objetivos: (1) Caracterizar a diversidade de polimor-fismos de hemoglobinas de acordo com suas procedências regionais e raciais; (2) proporcionar aos analistas clínicos uma sequência de a-tividades laboratoriais eficiente que dê amparo aos hematologistas clínicos no diagnóstico das anemias hereditárias; (3) orientar os portadores de hemoglobinopatias no que diz respeito aos cuidados que estes indivíduos devem tomar em relação a saúde; (4) a prevenção do nascimento de filhos homozigotos, através do aconselhamento genético aos portadores heterozigotos que se encontram em atividade reproduti va. Foram analisados 710 pacientes atendidos pelo setor de hematolo-gia para a realização de exames hematológicos de rotina, com idades entre 6 meses e 92 anos. Destes, 377 (53,10%) foram classificados co mo caucasóides e 333 (46,9%) como negróides. As amostras foram subme tidas a técnicas seletivas e específicas para a detecção de hemoglo-binas anormais. Também foi realizado o eritrograma de todas as amos-tras. A análise das amostras demonstrou que entre estas 40 (5,63%) tinham hemoglobinas anormais, sendo 35 (4,93%) hemoglobinas varian - tes (27 (3,80%) AS e 08 (1,13%) AC) e 05 (0,70%) beta talassemia he terozigota. A análise dos parâmetros hematológicos revelou que os portadores de Hb AS e Hb AC apresentaram resultados dentro dos limi-tes de normalidade, enquanto que os portadores de beta talassemia he terozigota apresentaram cifras inferiores às consideradas normais.

77

Alterações Morfológicas decorrentes da presença de Hemoglobina AS - Traço Falciforme.

Gáspari, Paulo Eduardo[1,2]; Zangerolamo, Evandra C.F.[1] e Franchini, Cristina da Cruz[1].
[1] UNIARARAS - União das Faculdades da Fundação Hermínio Ometto de Araras; [2]ICBO/PUCCAMP - Instituto de Ciências Biológicas e Química - Pontifícia Universidade Católica de Campinas.

A incidência de alterações morfológicas eritrocitárias, em indivíduos portadores de traço falciforme, foi avaliada em amostras sanguíneas coletadas dos acadêmicos da UNIARARAS, no período de março a outubro de 1996.
A avaliação foi realizada considerando os resultados dos exames de hemograma, prova de falcização e "Sickleded". Em paralelo, no Laboratório de Genética, foi realizado o exame de eletroforese de hemoglobina para verificação da hemoglobina AS.
Foram analisadas 848 amostras e verificada a incidência de traço falciforme em 1,77%, correspondente a 15 indivíduos.
Os resultados indicam que a alteração morfológica mais comum é a anisocitose, predominando a macrocitose, observada em 33% dos casos e, em menor incidência, a microcitose (16,5%) e a macrocitose associada a microcitose (16,5%). Alteração significativa também foi observada na concentração de hemoglobina, detectando-se, em 50% dos casos, uma hipocromia.
Os resultados das determinações dos índices hematimétricos (V.C.M., H.C.M., C.H.C.M.) confirmaram as alterações morfológicas observadas.

78

ANEMIA ESFEROCÍTICA HEREDITÁRIA: ESTUDO DE UMA FAMÍLIA

Lima Monte, A.A.; Correia da Silva, A.C.
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - UFRN, Natal.

Foram realizados exames num paciente oriundo da cidade de Lages Pintadas (RN), encaminhado pelo Núcleo de Hematologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, com sintomatologia de anemia esferocítica. Os exames foram: determinação do hematócrito, dosagem de hemoglobina, morfologia eritrocitária, contagem de reticulócitos, curva de fragilidade osmótica quantitativa das hemácias, eletroforese da membrana eritrocitária, dosagem das bilirrubinas, atividade de piruvato quinase (PK) e dosagem de glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD). As alterações morfológicas das hemácias confirmaram o diagnóstico desta anemia. Resolvemos pesquisar a família constituída de: mãe, três irmãos e os avós maternos. A curva de fragilidade osmótica apresentou-se normal em dois irmãos e na avó, mas positiva nos demais membros. Os outros exames identificaram que havia uma anemia associada.

79

"A INCIDÊNCIA DE HEMOGLOBINOPATIAS EM HOSPITAL ESCOLA

Autores: Costa,E.A.P.;Costa,P.H.M.;Angulo,I.L.&Luppino,P.L.

FUNFARME-Fac.Estadual de Medicina de S.J. do Rio Preto
LAB. CENTRAL - Av.Brig.Faria Lima, 5416

As hemoglobinopatias têm incidência de 3,08% quando pesquisadas em população aparentemente saudável, não anêmica. Entre portadores de anemia, ela é variável, conforme o tipo de doença subjacente e população estudada.

Entre 1992 e 1995, realizamos eletroforese de hemoglobina, em 1125 amostras de sangue de pacientes com idade inferior (592) e superior (533) a 12 anos e 11 meses, portadores de anemia (hemoglobina menor que 12g/dl), evidenciada' nos exames de rotina (eritrograma ou hemograma).

Avaliação qualitativa e quantitativa foi realizada em ' acetato de celulose em ph alcalino.

Os resultados foram os seguintes: em menores de 12 anos' e 11 meses, 83,61% de amostras normais e 16,39% anormais,' sendo 5,07% patológicas (SS,CC,SC e Beta/S) e 11,32% não patológicas (AS,AC,A² elevada acima de 3,6% e H). Acima ' desta idade, 81,80% de amostras normais, sendo 6,95% patológicas.

Em usuários da rede pública, anêmicos, a incidência de' hemoglobinopatias é elevada (17,4%) sendo 5,93% patológi-' cas o que sugere investigação sistemática das hemoglobinopatias em hospital escola, independentemente de solicita-' ção médica.

80

PREVALÊNCIA DOS SISTEMAS ABO E Rh NA CARDIOPATIA CHAGÁSICA CRÔNICA

Santana,R.C.S.; Silva-Filho,I..L.; Ferreira,V.; Nascimento,A.R.; Hasslocher-Moreno,A. Hospital Evandro Chagas/IOC/FIOCRUZ

Objetivo: Tem sido ventilado na literatura uma importante influência do sistema sangüíneo ABO nas formas clínicas da doença de Chagas . Este estudo tem como objetivo avaliar na cardiopatia chagásica crônica a sua associação com o sistema ABO e Rh.
Metodologia: Foram estudados 181 chagásicos crônicos, consecutivamente submetidos a avaliação cardiológica através de Eletrocardiograma, Ecocardiograma, Holter de 24 horas e Tipagem Sangüínea.
Resultados: Após análise das frequências relativas obtidas foram observados os seguintes resultados: 44,1% (80) são do grupo O+, sendo que 14,9% (27) apresentam a forma indeterminada (FI), 16,0% (29) tem a forma cardíaca sem miocardiopatia (FCSM) e 13,2% (24) a forma cardíaca com miocardiopatia (FCCM). 2,2% (4) são chagásicos crônicos do grupo O -, 1,6% (3) tem FI , 0,5% (1) a FCSM. 33,7% (61) são A+, 13,8% (25), 10,4% (19) e 9,3 % (17) são da FI , FCSM, FCCM, respectivamente. 2,7% (5) são do grupo A -, sendo 0,5% (1), 1,1% (2) e 1,1% (2) da FI, FCSM e FCCM, respectivamente. 12,1% (22) são do grupo B, 10,4% (19) são B+ e 1,6% (3) são B -, 4,4% (8) B+ são da FI, 3,8% (7) B+ são da FCSM e 2,2% (4) B+ são da FCCM. 0,5% (1) da FI, e 1,1% (2) da FCCM são B - . 4,9% (9) são do grupo AB+, 1,1% (2) são da FI, 2,2% (4) são da FCSM e 1,6% (3) são da FCCM. Não foi registrado nenhuma frequência para o grupo sangüíneo AB - nestes 181 pacientes chagásicos crônicos.
Conclusão: No cruzamento dos dados para obtenção da significância estatística, não foi observado diferença nas frequências do sistema ABO e Rh, nas manifestações clínicas na doença de Chagas crônica.

81

PADRONIZAÇÃO DE TÉCNICA PARA A PESQUISA DE CORPOS DE HEINZ

TORQUES, P.*; BARDELLI, C.R.*; ALBERTON, K.*; LEONART, M.S.S.**
*Bolsistas de Iniciação Científica e **Professora Adjunta do Departamento de Patologia Médica (Curso de Farmácia) da Universidade Federal do Paraná, Rua Coronel Dulcídio, 638, Curitiba-PR, CEP 80420-170.

Os corpos de Heinz se constituem na precipitação de moléculas protéicas no interior dos eritrócitos por denaturação oxidativa, especialmente a partir da degradação da hemoglobina e da ligação dos hemicromos formados à fração protéica da membrana. A quantificação de corpos de Heinz, formados espontaneamente ou por ação de indutores pode ser importante para o esclarecimento de doenças hemolíticas onde ocorre estresse oxidativo. Este trabalho teve o objetivo de padronizar uma técnica para pesquisa de corpos de Heinz [DACIE&LEWIS **Practical Haematology**, Churchill Livingstone, 6.ed, 1995]. Em sangue venoso de 20 indivíduos normais e de 5 portadores de anemias hemolíticas,. a estabilidade das amostras foi de 3 h à temperatura ambiente, quando empregou $EDTAK_2$ 1 mg/ml como anticoagulante, e de 1 hora com heparina 50 UI/ml ou com citrato fosfato-dextrose 10:1,4ml. Incubou-se 10 µl de sangue com 2 ml de tampão fosfato,67 mM pH 7,4 com 200 mg/dl de glicose, com ou sem a adição de KCl (25 a 250 mM) durante 30, 60 ou 120 min. Em lâmina de microscopia, juntou-se iguais quantidades do material incubado e de cristal-violeta 1g/dl em NaCl 0,73g/dl Na contagem de 1000 eritrócitos, considerou-se como contendo corpos de Heinz os que apresentassem dois ou mais corpúsculos arredondados de cor violeta. Estabeleceu-se 30 min de tempo de incubação e a concentração de 100 mM de KCl para a indução de corpos de Heinz. Os valores de referência foram de 4,1±2% para a formação espontânea e de 12±2% para a indução por KCl 100mM. Em pacientes portadores de anemias hemolíticas, obteve-se resultados normais para esferocitose e elevados em deficiência de piruvatoquinase e em um caso de hemoglobinopatia a esclarecer, o que demonstra a validade diagnóstica da técnica empregada. Apoio: PIBIC CNPq/UFPR

82

CONTAGEM DE RETICULÓCITOS EM SANGUE PERIFÉRICO HUMANO: NECESSIDADE DE PADRONIZAÇÃO.

Dulce Marta Schimieguel[1] Almeriane Maria Weffort-Santos[2] Maria Suely Soares Leonart[3]
[1]Bolsista de Iniciação Científica Tesouro Nacional/UFPR; [2]Professora Assistente e [3]Professora Adjunta do Dep. de Patologia Médica, Universidade Federal do Paraná.

A metodologia empregada na maioria dos laboratórios para contagem de reticulócitos baseia-se na precipitação de grânulos residuais de RNA, sob a forma de pontos ou de retículos que se coram em roxo azulado quando incubados a 37°C com uma solução isotônica de corante supravital. O principal objetivo deste trabalho foi fazer um levantamento das variações empregadas na metodologia de contagem de reticulócitos submetidos à coloração supravital em laboratórios de análises clínicas do Estado do Paraná. Para tanto, foram distribuídos questionários a 630 laboratórios de análises clínicas cadastrados no Conselho de Farmácia - PR, com perguntas fechadas (de alternativas) e, destes, somente 44 (7%) retornaram. Considerando as respostas obtidas a partir da análise dos resultados (em percentagem dentro dos colchetes), foi possível delinear o seguinte perfil: a contagem de reticulócitos tem sido realizada em sangue coletado com sais de EDTA (98%) mantido à temperatura ambiente (98%) entre 30 minutos (28%) e 3 horas (26%); a amostra é incubada com azul de cresil brilhante (100%) por 20 minutos (51%) à 37°C (91%), em proporção que varia de 2:1 a 4:1, de acordo com o hematócrito do paciente (70%). Sem contra-coloração (56%), os reticulócitos são caracterizados como células que apresentam grânulos e filamentos de material basófilo (54%) ou aquelas que contém um ou mais filamentos de material basófilo (33%), sendo contados entre 1 (49%) e 3 horas (26%) após a confecção da extensão. O resultado é expresso em % (91%), sem uso de índices de correção ou de produção (73%). Estes resultados preliminares, revelados pela divergência nas respostas do inquérito, nos permitiram confirmar a falta de padronização na contagem de reticulócitos em nosso meio, bem como a necessidade urgente de sua normatização, tendo em vista a crescente exigência da implantação de programas de controle da qualidade.

83

VALORES DO HEMATÓCRITO, HEMOGLOBINA E CONCENTRAÇÃO DE HEMOGLOBINA GLOBULAR MÉDIA NA GRAVIDEZ

Albuquerque, L.M.M.*; Silva, A.C.C.*; Azevedo, M.T.Q.**; Carvalho, G.G.**; Lima, N.K.F.***; Medeiros, T.M.D. *.
* - Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas/UFRN.
** - Maternidade Escola Januário Cicco/UFRN.
*** - Hospital de Pediatria/UFRN.

Foi levado a efeito um estudo da determinação dos valores médios do hematócrito, hemoglobina e concentração da hemoglobina globular média (CHGM) em uma amostra de mulheres grávidas, de diferentes idades gestacionais, objetivando-se relacionar os valores encontrados com a presença de anemia. A amostra foi constituída de 159 gestantes atendidas no Serviço de Pré-Natal da "Maternidade Escola Januário Cicco" da UFRN, e distribuídas em grupos de (11; 82; 66) de acordo com a idade gestacional, pertencentes ao 1º, 2º e 3º trimestres, respectivamente. A metodologia empregada consistiu na determinação do hematócrito pelo micrométodo e dosagem de hemoglobina através do método da cianometahemoglobina. Os valores médios obtidos foram:

Trimestre	n	Hematócrito (%)	Hemoglobina (g/dl)	CHGM (%)
1º	11	38 ± 2,9	12,9 ± 0,7	33,7 ± 2,3
2º	82	37 ± 2,6	12,1 ± 1,0	33,0 ± 1,5
3º	66	36 ± 2,7	11,9 ± 0,9	33,0 ± 1,2

84

VALORES NORMAIS DAS PROTEÍNAS DA MEMBRANA ERITROCITÁRIA ATRAVÉS DA ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA

Medeiros, T.M.D.*, Barretto, O.C. de O.**
* - Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da UFRN, Natal.
** - Faculdade de Medicina da USP - LIM 23, São Paulo.

A análise das proteínas da membrana eritrocitária tem importância na detecção de anemias hemolíticas, tais como esferocitose e eliptocitose hereditárias. Os autores apresentam os resultados obtidos através da eletroforese em SDS - gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) da membrana eritrocitária de 18 indivíduos normais. O sangue foi colhido em ACD e logo em seguida efetuada a remoção de leucócitos através de uma coluna de alfa celulose e celulose microcristalina. O isolamento das membranas eritrocitárias ("ghosts") foi feito pelo método de Dodge e colaboradores (1963) utilizando tampão fosfato 5 mM pH 7.4 contendo 0,2 mM de PMSF. A eletroforese foi realizada em gel de poliacrilamida em presença de SDS (SDS-PAGE) utilizando o sistema de Laemmli, com concentração fixa de acrilamida (10%) e o sistema de Fairbanks utilizando gradiente de acrilamida (3 a 17%). Após a coloração com azul de Coomassie as bandas protéicas foram analisadas por densitometria. Os valores médios obtidos foram: espectrinas = 25,4 ± 1,0%; banda 2.1 = 6,5 ± 0,4%; banda 2.2 = 2,9 ± 0,3%; banda 2.3 = 2,1 ± 0,3%; banda 3 = 33,2 ± 0,8%; banda 4.1 = 7,1 ± 0,6%; banda 4.2 = 6,3 ± 0,2%; banda 4.5 = 1,9 ± 0,5%; banda 4.9 = 1,8 ± 0,3%; banda 5 = 6,5 ± 0,5%; banda 5.x = 1,6 ± 0,3%; banda 6 = 4,7 ± 0,4% e banda 7 = 1,5 ± 0,2%.

85

PADRONIZAÇÃO DA ROTINA DE HEMOGRAMAS EM LABORATÓRIO DE HOSPITAL GERAL DE MÉDIO PORTE.

LABORATÓRIO BIO-CIÊNCIA /LAVOISIER - HOSPITAL SÃO JOSÉ DO BRÁS.
Dias, V. L. R. F. ; Almeida, R. C. ; Sales, M. M.

O hemograma é um dos exames mais solicitados na prática clínica tal a sua importância diagnóstica, todavia, é passível de erros durante as etapas envolvidas na sua realização, como exemplo a automação e microscopia. Com objetivo de estabelecer uma padronização na rotina da seção de hematologia relacionada ao exame do sangue periférico (SP), otimizamos o fluxograma das amostras de hemograma, na tentativa de melhorar a rapidez e acurácia diagnóstica.
As amostras de sangue são processadas segundo recomendações do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS). Esfregaços de SP são realizados em duplicata, imediatamente após sua chegada ao laboratório para que a morfologia seja idealmente preservada e corados com corante de Leishman, em seguida, as contagens absolutas e diferencial são realizadas no aparelho Cell-dyn 1400 (Abbott Laboratories) e complementadas pela microscopia óptica. Visando detectar patologias hematológicas ou de outras doenças que tenham acometimento medular, estabelecemos critérios de revisão de lâminas baseados nas alterações morfológicas e quantitativas dos leucócitos, hemáceas e plaquetas, a ser executada por Patologista Clínico ou Hematologista.
Os critérios de revisão são os seguintes: leucocitoses acima de 15mil/mm^3, leucopenias abaixo de 3mil/mm^3, linfocitoses absolutas, basofilias, desvio a esquerda quando este for até promielócito, reação leucoeritroblástica, suspeita de células imaturas, plaquetopenias abaixo de 100mil/mm^3, alteração morfológica de plaquetas, hemoglobina abaixo de 10g/dL e acima de 18g/dL, poiquilocitoses e VCM acima de 110.
Adotando-se essa padronização, observamos maior entrosamento da equipe de trabalho, possibilitando a reciclagem permanente da mesma e substancial melhoria da sensibilidade diagnóstica.

86

EXTRAÇÃO DE DNA DE COÁGULO SANGUÍNEO HUMANO COMO MÉTODO ALTERNATIVO PARA ESTUDOS DE GENOTIPAGEM

L.A. Salazar*, M.H. Hirata*, N.Y. Nguyen, R.D.C. Hirata***
*** Depto. de Análises Clínicas e Toxicológicas da FCF-USP. Av. Prof. Lineu Prestes, 580, B-17, CEP 05508-900, São Paulo, SP, Brasil**
****Facility for Biootechnology Resources, CBER, FDA, Bethesda, EUA**

O DNA utilizado em testes moleculares é comumente isolado de sangue anticoagulado. Vários métodos foram descritos para extração de DNA de coágulo sangüíneo, porém, esses métodos são trabalhosos e pouco práticos para o processamento de muitas de amostras. Nós otimizamos e avaliamos um método de processamento de coágulo sangüíneo para isolamento de DNA genômico de alta qualidade. Foram utilizadas amostras de sangue total colhidas em EDTA e de coágulo obtidas de 10 indivíduos não aparentados. Os coágulos foram homogeneizados utilizando o sistema Potter-Elvejyn NSE-11R. O DNA foi extraído pelo método de precipitação salina modificado (*Clin.Chem.*42:S298,1996). A quantificação e a pureza das amostras de DNA foram realizadas por espectrofotometria em 260 e 280 nm, sendo a sua integridade verificada por eletroforese em gel de agarose. A qualidade das preparações de DNA foi avaliada por amplificação da região polimórfica *Ava* II do gene do receptor da LDL, utilizando a técnica de PCR. A quantidade de DNA recuperado do coágulo fresco foi semelhante a do sangue total (61,5 ± 11,9 e 60,6 ± 12,6 µg/ml de sangue, respectivamente). A pureza do DNA extraído de coágulo foi semelhante a de sangue total ($A_{260/280}$=1,87 ± 0,19 e 1,96 ± 0,17, respectivamente). As amostras de DNA apresentaram-se intactas no gel de agarose e sem contaminação com RNA. O rendimento do DNA obtido por este método foi maior que o de outros estudos e mostrou-se adequado para análise do polimorfismo do gene do receptor da LDL. Portanto, o procedimento de extração de DNA otimizado em nosso laboratório é simples, rápido e aplicável para obtenção de DNA de alta qualidade de várias amostras de coágulo sangüíneo em estudos de genotipagem.

87

HIPOPLAQUETOGÊNESE MEDULAR NA TROMBOSE VENOSA PROFUNDA (TVP).

GUIMARÃES, M. C. M. N.; POHLI, A. O.; JEUCKEN, R.; COSTA, M. B. G. Laboratório do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil.

Foram estudados 24 pacientes na faixa etária de 10 meses a 15 anos (Média = 10,9a) com ocorrência de TVP prévia e apresentando cronicamente plaquetopenia média de 74500 plaquetas/mm^3 e desvio padrão de 24300 plaquetas/mm^3.
Não se constatou uso de substâncias químicas ativas.
No mielograma, o padrão citológico caracterizou-se pela hipercelularidade do Setor Megacariocitário com aparente diminuição da plaquetogênese.
Procedeu-se a reação citoquímica com ácido periódico de Schiff (PAS) com o objetivo de corar o glicogênio celular dando destaque às plaquetas, notando-se redução na produção plaquetária. Dos megacariócitos, 84,9% apresentaram-se negativos à reação ou com positividade difusa fraca, confirmando a insuficiência dessas células na produção de plaquetas.
O trabalho comprova a insuficiência de produção plaquetária associada a TVP como fator desencadeante, fato este pouco documentado.

88

O ADOLESCENTE E SEU PANORAMA HEMATOLÓGICO.

COSTA, M. B. G.; GUIMARÃES, M. C. M. N.; SATO, M. I.; COLLI, ANITA; MACHADO, D.; CARRAZZA, F. R. Laboratório do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil.

Na maior parte dos trabalhos em hematologia vinculados à variabilidade dos parâmetros sangüíneos e a idade, não são apontadas as peculiaridades no hemograma do adolescente, enquadrando-o nos padrões do adulto.
Tendo em vista a profundidade das alterações fisiológicas a que são submetidos na faixa etária de 10 a 19 anos (OMS) realizamos observações em 97 adolescentes sem patologias onco-hematológicas ou infecciosas, 42 do sexo masculino e 55 do sexo feminino, provenientes do Ambulatório de Adolescentes deste hospital com o objetivo de estabelecer análise preliminar dos valores de referência hematológicos para adolescentes da região da .Grande São Paulo.
Os parâmetros . considerados foram: hemoglobina e aspectos leucocitários.
Verifica-se, que 84% da população alvo apresenta linfocitose relativa (maior que 30%) bem como 30% dessa população é granulocitopênica.
Apenas 11% podem ser considerados anêmicos (Hb < 12g/dl).
Mercê dos testes estatísticos (X^2) demonstra-se que a distribuição populacional da concentração de hemoglobina observada, normal e abaixo de 12g/dl, não tem diferença significativa (α = 0,05) entre os sexos. O mesmo ocorrendo quando analisamos a presença de leucopenia e eosinofilia.
Concluímos que a população estudada apresenta hemoglobina e leucócitos na faixa da normalidade embora a contagem diferencial destes indique persistência de linfocitose com granulocitopenia nesta faixa etária.

89

EOSINOFILIA MEDULAR E LEUCOPENIA ASSOCIADA A TROMBOSE DE VEIA PORTA (TVP). GUIMARÃES, M. C. M. N.; POHLI, A. O.; BAPTISTA, S. S.; JEUCKEN, R.; COSTA, M. B. G. Laboratório do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil.

Foram estudados 24 pacientes com história pregressa de TVP, fora de tratamento e sem uso de qualquer terapia específica para aquela ocorrência.
O presente estudo tem como objetivo o relato de anormalidades hematológicas associadas a TVP encontradas em nossa Unidade.
A análise do hemograma indica Setor Eritrocitário conservado e leucopenia com média 2900 leucócitos/mm^3 e desvio padrão 1439leuc./mm^3.
O mielograma revela Relação G/E com média de 1,9/1,0 (normal = 3/1), aumento para o Setor Vermelho e eosinofilia em 55% dos pacientes superior a 7% na população granulocítica (normal até 5%). Os demais elementos do parênquima medular apresentam-se dentro dos padrões habituais do mielograma.
Dentre as anoramlidades hematológicas ressaltamos o hemograma com leucopenia e presença de eosinofilia no mielograma, associados a TVP.

90

ESTUDO MORFOFUNCIONAL DE LEUCÓCITOS POLIMORFONUCLEARES SANGÜÍNEOS EM INDIVÍDUOS *HIV* SOROREAGENTE

Spada, C.*; Treitinger, A.*; Borsatto, E.M.*; Ferreira, L.A.P.**; Reis, M.**; Hoshikawa-Fujimura, A.Y.***

* Departamento de Análises Clínicas/CCS/UFSC
** Laboratório do Hospital Universitário/UFSC
*** Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas/FCF/USP

O comprometimento das funções leucocitárias em indivíduos com AIDS, em que se manifestam as infecções oportunistas, vêm sendo estudadas desde 1985. Contudo, o comportamento dos leucócitos em sua função, nos estágios iniciais da infecção pelo HIV, ainda necessita ser esclarecido, haja vista as controvérsias existentes. Considerando-se a precariedade da defesa imunológica e fagocitária dos indivíduos com AIDS, e conseqüentemente a dificuldade destes indivíduos, em controlar a invasão de microrganismos e as infecções oportunistas, desperta o interesse em verificar as funções de defesa dos leucócitos nos indivíduos HIV sororeagente. Para tanto o objetivo do nosso estudo foi avaliar, na fase inicial da infecção pelo HIV os parâmetros laboratoriais associados à série branca, que são sabidamente alterados na fase de doença. Em nosso estudo avaliamos 75 indivíduos sororeagente para o HIV-1 pelo teste de ELISA e confirmados por imunofluorescência. Estes indivíduos foram triados por médicos infectologistas e classificados conforme proposto pelo Walter Reed Army Institute. Em nossos resultados observamos que os níveis de fagocitose dos neutrófilos; a atividade *killing* dos neutrófilos; a atividade da enzima mieloperoxidase e a produção de ânion superóxido encontram-se alterados nos indivíduos infectados pelo HIV no início da infecção e guardam correlação com a evolução da mesma.

91

EXPRESSAO DAS *Esherichia coli* ENTEROPATOGENICA CLASSICA (EPEC) NA MAGNITUDE DAS INFECÇÕES DIARRÉICAS EM GOIÂNIA-GO. ALMEIDA, R. F. e NOJIMOTO, I. T. I. (Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da UFG).

[INTRODUÇÃO] As afecções entéricas de natureza bacteriana apresentam um dos grandes problemas de saúde pública que afligem a população, particularmente em indivíduos de menor idade. A EPEC é um dos agentes mais frequentes em diarréia infantil no Brasil, sendo importante epidemiologicamente caracterizar os biosorogrupos mais comuns na região.[METODOLOGIA] Isolar e edentificar as EPEC através de provas bioquímicas e sorológicas.[RESULTADO] A análise de 180 amostras de *Esherichia coli* constatou a presença de 36 EPEC, sendo os mais prevalentes O111 (19.4%) , O26 (13.9%) , O114 (11,1%), O158 (11.1%).Estudos de susceptibilidade aos antimicrobianos indicaram que as EPEC foram sensíveis a Gentamicina (97%) , Ácido nalidíxico (97%), Ciprofloxacina (94%), Cloranfenicol (82%).

Palavras-chave:1)EPEC 2)Diarréia 3)Biosorotipos

92

***Aeromonas spp* ASSOCIADAS A DIARREIA NO HOSPITAL MATERNO INFANTIL DE GOIÂNIA-GOIÁS.**

NOJIMOTO,I.T.I.; BEZERRA,C.S.C.; CONCEIÇÃO,D.C.; CARMO,C.; VALADÃO,L.M. & SOUZA,S.R.(Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da UFG)

As *Aeromonas spp* estão sendo reconhecidas como importantes patógenos intestinal humano. Foram analisadas um total de 163 amostras de fezes de crianças abaixo de 5 anos no período de 1995 e 1996. Foram coletadas 91 amostras de fezes diarréicas e 72 de fezes não diarréicas em meio para transporte e submetidas ao processo de enriquecimento a 4°C por 7 dias. Para o isolamento primário foi utilizado Ágar Amido Ampicilina e incubados a 35°C por 18 a 24 hs. As *Aeromonas spp* isoladas foram: *A. caviae* 4,29%, *A. salmonicida* 3,68%, *A. sobria* 2,45%, *A. hidrophila* 1,22% e *A. achromogenes* 0,61%. Nenhuma *Aeromonas spp* foram isoladas de 72 pacientes controle. Estudos de susceptibilidade aos antimicrobianos indicaram que as *Aeromonas spp* foram sensíveis a ciprofloxacina, cloranfenicol, gentamicina, e resistente a ampicilina e eritromicina.

UNITERMOS: *Aeromonas spp*; patógeno intestinal; diarréia.

93

Perfil Epidemiológico de candidíases Vaginais em pacientes atendidas nos centros de assistência à saúde e testes de sensibilidade frente a drogas antifúngicas.

Bezerra, C.S.C.; Barros, A.L.R; Rabelo, S.H.; Garcia, T.A.; Rodrigues, M.R.; Aprobato, M.S.; Alcanfor, J.D.X.; Silva, V.D.; Prazeres, H.D. & Soares, A.J.

Candidíases são infecções de caráter oportunista. Na maioria dos casos, a doença é causada por ***Cândida albicans,*** um membro da flora normal das mucosas das vias respiratórias, gastrointestinais e genitais. Porém a ***Cândida Glabrata***, entre outras espécies, pode ser responsabilizada por esses quadros. No que tange ao tratamento destas infecções, relatos da resistência de ***Cândida glabrata*** ao tratamento convencional para candidiases tem sido reportados. Este trabalho procurou identificar a concentração inibitória mínima (MIC) de drogas antifúngicas usadas no tratamento de candidíases.As drogas utilizadas com este objetivo foram Letoconazol, Itraconazol 5-Fluorocitosina, Fluconazol e Anfotericina B, através das fitas **ETEST**. Além das provas especificas com as drogas acima mencionadas foi realizada Citologia Oncoparasitária de cada paciente pelo método de Papanicoloau.

94

Primeiros isolamentos de **Arcobacter butzleri e Arcobacter cryaerophilus** no Brasil.

Oliveira, *Sérgio J. de, Kader, **Ivonyr I.T. A.,***Baetz, Albert L.Wesley, ***Irene V.

Céntro de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor(CPUDF-FEPAGRO)*. Fundação Faculdade Federal de Ciência Médicas de Porto Alegre (FFFCMPA)**e National Animal Disease Center (NADC)***.

Resumo: O gênero **Arcobacter** é proposta (Vandamme, 1991)espécies **A. cryaerophilus** e **A. butzleri** para **Campylobacter aerotolerantes"**, isolados de animais e homem. **A. cryaerophilus** isolado de fetos suínos abortados e órgãos genitais de machos e fêmeas. **A. butzleri** é isolado na Europa e América do Norte de diarréia humana. Arcobacter spp cuja patogenicidade e modo de ação não definidos, mas isolados de infecções humanas nos preocupou. Na América do Sul há' registros (Chile, 1995) de **A. cryaerophilus** isolados de feto bovino e no Brasil(1995) de suínos. Foram isolados 49 amostras de fetos suínos, útero e oviduto de porcas com problemas de reprodução e líquido prepucial de machos reprodutores e de abate. No total 47 **A. cryaerophilus**(30 de porcas e fetos, 17 de machos) 2 **A. butzleri** de oviduto de porcas e líquido prepucial de suíno de abate,classificadas por PCR e RFLP. Inexistência de isolamento do homem, no país, permite intensificar pesquisas, pois as bactérias constituem-se risco a saúde pública, principalmente **A. butzleri** presente nos animais de consumo humano.

95

Influência dos agentes antineoplásicos na suscetibilidade de *Candida* a antifúngicos

Alves,S.H*.; Lopes,J.O.S*. ; Homer,R*; Cury,A.E.**
*Universidade Federal de Santa Maria
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas: Universidade de São Paulo

Buscando verificar a possibilidade dos agentes antineoplásicos promoverem alterações na suscetibilidade de *Candida spp* frente a anfotericina B e antifúngicos azólicos, 30 cepas de *C.albicans* e 30 de *Candida* não *albicans* foram expostas, isoladamente, a estes agentes, durante 96h. Após reisolamento em meio isento de drogas, as cepas foram submetidas a testes de suscetibilidade frente a anfotericina B, fluconazol, itraconazol , cetoconazol e miconazol.

Verificou-se que BCNU e ciclofosfamida reduziam a suscetibilidade das leveduras às concentrações fungicidas de anfotericina B e inibitórias aos azólicos. Por outro lado, metotrexato e tiotepa se caracterizaram por aumentar a sensibilidade de *Candida spp* aos antifúngicos. Os demais antineoplásicos estudados não determinaram alterações significativas na suscetibilidade de *Candida spp* aos antifúngicos avaliados.

Financiado pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

96

Variação na atividade de proteinase e fosfolipase de *Candida albicans* após exposição aos agentes antineoplásicos.

Alves,S.H*.; Lopes,J.O.S*.; Homer,R*.; Cury,A.E.**
*Universidade Federal de Santa Maria
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas; Universidade de São Paulo

Objetivando verificar se os agentes antineoplásicos seriam capazes de promover variações nas atividades de proteinase e fosfolipase de *Candida albicans*, trinta cepas desta espécie, nas fases leveduriforme (Y) e filamentosa (M), foram expostas , isoladamente, durante 96h aos antineoplásicos BCNU, bleomicina, ciclofosfamida, cisplatina, citarabina, daunorrubicina, etoposida, metotrexato, tiotepa e vincristina.

A seguir, as leveduras foram reisoladas em ágar Sabouraud dextrose isento de drogas e avaliadas quanto a atividade proteolítica e fosfolipásica, nos meios específicos.

Verificou-se que BCNU, metotrexato e tiotepa inibiam a atividade proteolítica enquanto que a cisplatina incrementou esta atividade. Por outro lado, BCNU e ciclofosfamida intensificaram a atividade de fosfolipase mas, citarabina, metotrexato e tiotepa inibiram esta atividade. Também foram verificadas alterações nas atividades de proteinase e fosfolipase dependendo da exposição ter ocorrido na fase leveduriforme ou filamentosa.

Projeto financiado pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

97

INCIDENCIA E ETIOLOGIA DAS DERMATOMICOSES SUPERFICIAIS EM CAMPO GRANDE - MS E REGIÕES.

AUTOR E APRESENTADOR. CLEONICE LEMOS DE SOUZA
COLABORADORES: IGLESIAS,L.M.;MOTA,A.R.C.; HANS,G.F.;HAYASHI R.S.N.; AGUIAR,J.I.A.; FREITAS, G.M.B.; PANIAGO, A.; LINDEN BERG, A.S.C.; CARVALHO, N.C.P.; (Departamento de Farmacia e Bioquimica - UFMS.)

Inúmeros estudos sobre agentes etiológicos das micoses superficias tem sido feitos em vários Estados do País, como ainda desconhecíamos a flora fúngica da nossa região, foi realizado um estudodas micoses superficiais atendidas no Nucleo do Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul de setembro de 1993 a julho de 1996, com objetivo de conhecer a incidência e os principais agentes causadores das micoses superficiais, foram analisadas amostras de 836 pacientes com lesões sugestivas de dermatomicoses. O exame micologico revelou 506 casos positivos; os resultados obtidos atrvés de cultivo demonstraram que os agentes etiológicos mais encontrados foram: T.rubrum, T.mentagrophytes, M.furfur, C.albicans, M.canis. Baixa prevalência de T.tonsurans e E.floccosum (1%); Entre as Candidas, a C.albicans foi prevalente - 73,7% (CPq/PROPP/UFMS)

98

Pesquisa de *Escherichia coli* O157:H7 em fezes diarreicas

DEVIENNE, K. F*. & RADDI, M. S. G. Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP. R. Expedicionários do Brasil, 1621. CEP 14 801-902 Araraquara - SP

E. coli O157:H7 vem sendo considerada, na América do Norte, um patógeno emergente na etiologia de diarréias. A Associação de Laboratórios de Saúde Pública dos Estados Unidos recomenda que os laboratórios clínicos realizem triagem para esse microrganismo em culturas de fezes, principalmente, quando sanguinolentas. O método recomendado é relativamente simples e está baseado no fato de que ***E. coli*** O157:H7 não fermenta o sorbitol rapidamente. Entretanto, necessitamos avaliar o custo-benefício da inclusão, na rotina laboratorial de coprocultura, de metodologia específica para a pesquisa desse microrganismo.

Neste trabalho realizamos cultura de fezes diarreicas, de 37 pacientes, em agar MacConkey sorbitol (Difco), que contém 1% de sorbitol ao invés de lactose. Um total de 65 colônias sorbitol negativas foram triadas em agar tríplice açúcar (TSI) e submetidas a provas bioquímicas, devido a possibilidade de outros microrganismos sorbitol negativo darem reação cruzada com o antisoro O157. O teste de aglutinação em lâmina, com antisoro específico (Probac), foi realizado para 31 microrganismos identificados como ***E. coli.*** Reações positivas não foram observadas.

Apesar da ausência do microrganismo nos materiais examinados, casos esporádicos e/ou surtos só serão detectados se os laboratórios clínicos realizarem triagem para ***E. coli*** O157:H7. Para que essa metodologia seja incorporada à rotina de coproculturas necessitamos de maiores informações quanto a incidência desse microrganismo nas diversas regiões do Brasil.

* Bolsista de Iniciação Científica

99

AVALIAÇÃO DO USO DE ANTIMICROBIANOS NO INSTITUTO DR JOSÉ FROTA (IJF) NO PERÍODO DE MAIO A DEZEMBRO DE 1996

Zoraide M. Tavares, Geanne M. A. Cunha, Sonia M. S. Macêdo, Francisca Maria de Siqueira, Telma L. Agostinho, Francisca Terezinha C. Tomaz- Centro de Estudos Dra Zoraide M. Tavares, *IJF

A maioria das infecções hospitalares são decorrentes de um desequilíbrio entre a flora microbiana normal do paciente e seus mecanismos de defesa, as causas desse desequilíbrio são determinadas doenças responsáveis pela hospitalização e procedimentos invasivos ou imunossupressivos a que o doente, correta ou incorretamente foi submetido. Em vista disso o objetivo do presente trabalho foi avaliar o perfil de sensibilidade de bactérias isoladas no IJF frente aos antimicrobianos mais usados e fazendo uma correlação com o uso de antimicrobianos pelo paciente. As amostras (sangue, urina, secreções, cateter, etc) de pacientes internados em várias unidades do hospital foram enviadas ao laboratório de microbiologia e realizada a cultura em agar sangue e agar MacConkey, identificação e TSA. Também foi realizada uma pesquisa aos prontuários dos pacientes para analisarmos o uso de antimicrobianos. Foram analisadas 674 amostras, entre os microrganismos isolados prevaleceram: *S. aureus* (18,9%), *P. aeruginosa* (18,5%), *K. pneumoniae* (16,7%) e *E. coli* (12,2%), observamos também um aumento na incidência de *Acinetobacter sp* (7,2%). As infecções em muitos casos foram do tipo polimicrobiana, com um grande número de cepas resistentes às cefalosporinas de 2ª e 3ª geração e às quinolonas. E em muitos casos os MO isolados eram resistentes aos antimicrobianos usados pelo paciente. Os dados mostram um uso indiscriminados de antimicrobianos, o que contribue para a morbidade, prolongamento da permanência no hospital e um aumento nos custos deste hospital.

*Instituto Dr José Frota (IJF)- R. Barão do Rio Branco, 1866, Centro, Fortaleza,CE

100

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM ENTEROCOCOS DE ORIGEM ANIMAL

AVELINO,C.C. & GARCIA,A.M.
Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas- Departamento de Análises Clínicas
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714 - 37130 000- Alfenas - MG

Os enterococos estão se tornando importantes patógenos nosocomiais, fato este relacionado à resistência a vários agentes antimicrobianos. As medidas de controle incluem a detecção e o isolamento de portadores desses microrganismos. A fonte de enterococos é normalmente de origem endógena, sendo os portadores gastro intestinal importantes reservatórios para a infecção. Estudos relataram que ***Enterococcus spp***, isolados da flora intestinal de uma variedade de animais, apresentaram resistência a altos níveis de aminoglicosídeos. No presente trabalho, um total de 68 amostras de fezes de animais sadios (13 cães, 14 equinos, 37 bovinos, 2 aves e 2 caprinos) foram semeadas em agar KF Streptococcus, sendo isoladas 38 amostras de enterococos. A identificação , feita conforme descrito por Facklan e Collins(1989), foram assim expressas: ***E.hirae***(47,4%), ***E.faecalis*** (42,1%) e ***Enterococcus spp*** (10,5%). Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos, determinados pela técnica de difusão em agar (NCCLS,1990), demonstraram que 63,1% das amostras foram resistentes à gentamicina, 52,6% à tetraciclina e pefloxacina e 26,3% à eritromicina. Com relação ao cloranfenicol e norfloxacina, verificamos 89,5% e 81,5% de sensibilidade, respectivamente, sendo que as demais amostras foram intermediárias aos mesmos. Todas as amostras foram sensíveis à vancomicina e nitrofurantoína e moderadamente sensíveis à ampicilina e penicilina. Testes para a detecção de níveis elevados de resistência (HLR) à gentamicina (500µg/ml), foram realizados em agar Mueller Hinton (Difco) adicionado da concentração do antibiótico. HLR para a gentamicina foi detectado em 25% das amostras testadas.

Instituição financiadora : CNPq

101

ANÁLISE BACTERIOLÓGICA DE UROCULTURAS E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADAS EM PACIENTES DE AMBULATÓRIO

BARBOSA, T.C.; AVELINO,C.C.; LANDRE, C.C.; LARAIA, E.P.

EFOA - Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas.
LAC- Laboratório Central de Análises Clínicas

Com o propósito de analisar a frequência dos patógenos de infecções do trato urinário (ITU) em nosso meio, foi feito um levantamento de 1434 uroculturas efetuadas no LAC-EFOA, em 1996. Dessas, 248 amostras foram consideradas positivas para ITU, havendo predomínio de infecções em pacientes do sexo feminino (85,5%). Os microrganismos identificados foram ***Escherichia coli*** (56,4 %); ***Proteus mirabilis*** (8,9 %), ***Enterobacter spp*** (7,2 %) ,***Staphylococcus saprophyticus*** (6,4%), ***Staphylococcus aureus*** (5,6%), outros estafilococos coagulase negativa (5,6%), ***Streptococcus agalactiae*** (3,2%) , ***Enterococcus spp*** (2,4%) e outros (4,3% - ***Streptococcus spp, Klebsiella spp, Pseudomonas spp*** e ***Acinetobacter spp***) . As cepas de ***Escherichia coli*** testadas frente aos antimicrobianos apresentaram sensibilidade à norfloxacina (95,5%), gentamicina e amicacina (95,2%) , nitrofurantoína (91,0%) , ácido nalidíxico (86,4%) ácido pipemídico (85,0%) , e resistência à carbenicilina (52,3%) , ampicilina e amoxacilina (65,5%) , sulfazotrim (76,8%) e cefalosporinas de primeira geração (91,2% -cefalexina e cefadroxil)

102

Infecções em Cirurgias Abdominais na Maternidade Escola Januário Cicco - Período 95.2 a 96.1. - Natal/RN. SOUZA, Márcia Pessoa Lima de.; ARAÚJO, Maria do Socorro Meira de.; SILVA, Francisco Fábio Marques da.; ABRANTES, Maiza Rocha de.; FONSECA JÚNIOR, Eduardo Graciliano da.; SOUZA, Nilba Lima de Souza.

Local da Realização do Trabalho: ***Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas do Centro de Ciências da Saúde (Faculdade de Farmácia) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) e Maternidade Escola Januário Cicco (UFRN).***
Endereço do Local de Realização do Trabalho: ***Rua General Gustavo Cordeiro de Farias s/n- Petrópolis (CEP 59010-180).***
Especialidade que será classificada o trabalho: ***(8) Microbiologia ou Micologia.***

As infecções cirúrgicas ocupam uma parcela significativa no levantamento das infecções hospitalares, sendo importante causa do prolongamento do tempo de internação com aumento de custos e todas as conseqüências advindas deste fato. Este estudo realizado na Maternidade Escola Januário Cicco no período de agosto de 1995 a junho de 1996, tem como objetivos identificar o número de casos positivos, principais agentes etiológicos envolvidos, sensibilidade x resistência frente aos antimicrobianos, como também avaliar o uso de profiláticos. Foram avaliados 124 casos suspeitos de infecção nosocomial onde a freqüência de positividade foi de 16,12%, sendo que os agentes etiológicos mais freqüentemente isolados foram *Staphylococcus aureus, Enterobacter sp*, correspondente a uma freqüência de 7,09% para cada agente causal, respectivamente. Os resultados permitem, ainda, analisar o uso elevado de profilático (73,39%) , como também os antimicrobianos mais eficazes, tais como: Rifampicina, Vancomicina, Cefaclor e Cloranfenicol para *Staphylococcus aureus*, Imipenem, Ceftazidima, Gentamicina, Amicacina, Cefotaxima para *Enterobacter sp.*

103

DETECÇÃO DE VAGINOSE BACTERIANA ATRAVÉS DA APLICAÇÃO DO GRADIENTE DE NUGENT. ABBONDANZA,V.L.C., PELISSON,M.,PERUGINI,M.R.E., CARRARA, F.E., Ambulatório do Hospital das Clínicas. **Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná Setor de Microbiologia Clínica - Londrina.

A vaginose bacteriana, também denominada anteriormente como vaginite inespecífica é uma síndrome caracterizada pela diminuição de Lactobacillus e aumento acentuado da flora anaeróbica e/ou facultativa, cujo diagnóstico definitivo pode se tornar oneroso, devido à utilização de técnicas especiais de cultivo. O objetivo deste trabalho foi verificar o percentual de vaginose bacteriana em nosso serviço através da aplicaçãodo Gradiente de Nugent à coloração de Gram de secreções vaginais. Foram analisadas 3227 secreções vaginais colhidas no ambulatório do HC* e HURNP**, durante o período de Janeiro a Dezembro/96. A presença de Leveduras e Trichomonas foi verificada através da pesquisa direta à fresco e a flora presente, através da coloração de Gram. As leituras das lâminas de Gram foram graduadas segundo Negent e classificadas em 3 grupos: normal (score 1 a 3) intermediarias (score 4 a 6) e vaginose bacteriana(score 7). Das 3227 lâminas observadas, 1922 (59,56%) foram classificadas como normais; 761 (23,58%), como intermediáriase 544(16,86%) como vaginose bacteriana. A presença de leveduras foi detectada em 384 (11,90%) das 3227 amostras,enquanto que Trichomonas foi detectada em 48 (1,49%) do total de amostras analisadas. A aplicação do Gradiente de Nugent à coloração de Gram mostrou-se um método útil, rápido, de baixo custo e, objetivo na caracterização das vaginoses bacterianas clássicas.

104

INCIDÊNCIA DE INFECÇÕES POR ESTAFILOCOCOS MULTIRESISTENTES NO HURNP- Londrina-Pr.- ABBONDANZA , V.L.C.; PERUGINI,M.R.E., PELISSON, M. ; CARRARA,F.E.

Instituição: Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná - (HURNP), Londrina-Pr.

Objetivo : Avaliar a frequência de infecções por MRSA no HURNP em 1995.
Material e Métodos: 3935 culturas de diversos materiais clínicos realizadas em 1995 foram investigadas quanto à presença de Staphylococcus aureus. A frequência de MRSA foi determinada por análise do antibiograma conforme protocolo do NCCLS (1993). Uma relação entre as amostras isoladas, material clínico, setor hospitalar de isolamento , idade e sexo dos pacientes foi estabelecida.
Resultados: das 3935 culturas investigadas, 518 (13,2%) foram positivas para Staphylococcus aureus, e destas, 204 (39,4%) eram resistentes à meticilina. MRSA foi mais frequentemente isolado em secreções cirúrgicas e não cirúrgicas (81,8%). A incidência de infecção foi maior nos extremos de idade e no sexo masculino. O setor hospitalar mais acometido foi a Clínica Médica que apresentou um índice de 74,7%, seguida da UTI, Moléstias Infecciosas e Ambulatório Médico com 22%.
Conclusão : A elevada incidência de MRSA demonstrou a importância deste agente como patógeno. A existência de cepas multiresistentes nas diversas unidades do Hospital reforça a importância da análise e acompanhamento das infecções por MRSA no controle da disseminação deste microrganismo no ambiente hospitalar.

105

INFECÇÕES POR ACINETOBACTER ssp NO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LONDRINA,PR. - Pelisson, M., Perugini, M.R.E., Carrara , F.E., Abbondanza , V.L.C., Lorena Neia,F.E., Sauza,J.S.S.

Instituição : Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná (HURNP), Londrina-Pr.

Objetivo : Verificar a epidemiologia do gênero Acinetobacter no HURNP em 1995.

Material e Métodos: Um total de 6236 culturas de diversos materiais clínicos realizadas em 1995 foram investigadas para verificar a incidência de Acinetobacter ssp. As amostras foram analisadas conforme metodologia padrão e os testes de sensibilidade a antimicrobianos pelo método de difusão em disco conforme protocolo de NCCLS (1993) O material clínico, a Unidade Hospitalar de isolamento, bem como sexo e idade dos pacientes com infecção foram analisados.

Resultados : 151 culturas foram positivas para Acinetobacter ssp (2,4%) 113 (74,8%) provenientes de material clínico e 38 (25,2%) do ambiente. Não houve diferença na infecção entre os sexos e uma maior prevalência foi verificada nas faixas etárias de 0 a 2 anos (28,7%) e em indivíduos maiores de 50 anos (34%). As clínicas mais acometidas foram: **UTI Neonatal** (18,5%) e **UTI de adultos** (33,1%). As amostras isoladas apresentaram um elevado perfil de resistência.

Conclusão : Os dados obtidos ressaltam a importância de Acinetobacter ssp como agente de infecções pela sua elevada frequência e multiresistência a antimicrobianos.

106

Apresentação de um caso de infecção pelo Diphyllobothrium latum

Santos, Sandra Rosalem Pereira dos; Franco, Maria Cristina Barchi; Ribeiro, Maria Conceição Lucas; Pinto, Thaís Helena Lemos.

Paciente com 42 anos, sexo masculino, **residente em Tóquio estando temporariamente no Brasil**, a trabalho. Realizou exame parasitológico de fezes neste Laboratório, onde foram encontrados ovos de Diphyllobothrium latum. Estava em tratamento com Zentel (anti- helmíntico).

Um pouco sobre o parasita e a doença:

- Há pelo menos 2 espécies de tenia do peixe que infectam o homem:
- O Diphyllobothrium latum e o D. pacificum
- Diphyllobothrium latum é um helminto pertencente à classe Cestoda.

É um parasita de peixes e sua distribuição geográfica está relacionada a certos sistemas de rios e lagos e está ligada aos costumes alimentares da população (hábito de comer peixe cru). O D. latum ocorre no mar Báltico, na bacia do Volga, na Finlândia, no Lago Constance, nas áreas lacustres da Suíça, na Itália, no delta do Danúbio, na Sibéria, Japão e América de Norte. No Brasil não há casos autóctones mas, este helminto tem sido encontrado em indivíduos que já vieram infectados do seu país de origem.

Hospedeiros:

- 1 º hospedeiro intermediário : crustáceos do gênero Cyclops
- 2 º hospedeiro intermediário: carpa, truta e salmão
- hospedeiro definitivo: homem, cão e gato

Infecção: através da ingestão da carne destes peixes, crua ou marinada, contendo os plerocercoides

Habitat: intestino delgado

Sintomas e sinais: pode causar diarréia, dor abdominal, obstrução intestinal e em algumas condições, anemia perniciosa por deficiência de Vitamina B12. Algumas vezes os plerocercoides não se tornam sexualmente maduros no intestino do homem, migram para a cavidade abdominal e musculatura onde causam inflamação (esparganose). Isto ocorre principalmente na Rússia, Japão, China, e Indochina.

Diagnóstico: é feito no material fecal através do achado de ovos operculados característicos ou da identificação de proglotes grávidos eliminados em cadeia

Tratamento: uso de um tenícida (Praziquantel ou Niclosamina), acrescido de vitamina B12 (nos casos em que há anemia megaloblástica). A esparganose não é afetada pela terapêutica .

107

HTLV EM LACTANTES.

Vanda C.B. Mesquita; Paola T. Costa; Vânia A.F. Barreto Gomes.
HEMOCE/SSE/UFC-FORTALEZA-CE.

A infecção pelo vírus HTLV-I/II (Vírus Linfotrópico para células T Humanas) tem despertado o interesse de pesquisadores em diversas partes do mundo, inclusive no Brasil, que foi considerada uma das áreas endêmicas para a infecção.

Foram estudadas 215 amostras de sangue de lactantes, que compareceram ao Banco de Leite Humano da Maternidade Escola Assis Chateaubriand (BLH/MEAC), no período de julho à novembro de 1994. Realizamos o estudo sorológico em duas etapas: a primeira etapa, a triagem, nela utilizamos o método ELISA (ABBOTT, 90 amostras e EMBRADRIO: 125 amostras) segundo a técnica descrita pelo fornecedor; e a segunda etapa teste confirmatório WESTERN-BLOT (Cambridge Biotech). Na triagem sorológica por ELISA, encontramos uma positividade em torno 1%, que representou 2 testes positivos (reagentes ABBOTT(1) e EMBRA BIO(2)) nas 215 amostras analisadas. A faixa etária das lactantes variou de 14 a 39 anos, com uma média de idade de 30, 2 anos. Das 215 lactantes estudadas,194 eram primíparas, 16 tinham 2 filhos e 5 tinham entre 3 e 5 filhos. Observamos que entre as 215 lactantes, 6% eram doadoras do Banco de Leite. Nosso percentual de 0,5% (1/215), confirmado pelo WESTEN-BLOT (um único caso),tratava-se de uma lactante, 18 anos, primípara que se encontava no segundo mês pós-parto. Será encaminhado ao prontuário este resultado e o pedido de encaminhamento desta paciente para o ambulatório de HTLV em funcionamento no HEMOCE. Mães com resultados positivos confirmados, são aconselhadas que a amamentação não deverá continuar após 30/40 dias pós parto, aproximadamente, quebrando assim a cadeia de transmissão através do leite.

A soropositividade para HTLV na população estudada, 215 lactantes da MEAC/UFC foi de 0,5% de positividade utilizando os métodos ELISA e WESTERN-BLOT. Considerando a transmissão vertical (mãe/filho) e a transmissão horizontal (via sexual) concluimos que é de grande valia a pesquisa do HTLV na população feminina.

108

CONTROLE MICROBIOLÓGICO DO LEITE HUMANO ORDENHADO

Maria Marly Lopes Vieira Peixoto & Roxiane Martins Monteiro
Matern.Escola Assis Chateaubriand – UFCE

A qualidade do leite humano processado e estocado pelos Bancos de Leite , resulta da avaliação de uma série de parâmetros, entre eles as características microbiológicas.

Neste trabalho analisamos microbiologicamente, 200 amostras de leite humano, antes e após pasteurização, com o objetivo de mostrar a qualidade sanitária do produto processado no Banco de Leite Humano da Maternidade-Escola Assis Chateaubriand.

A pasteurização foi feita à 62,5º C por 30 minutos, e as análises microbiológicas seguiram a metodologia alternativa desenvolvida pela FIOCRUZ/MS, fundamentada em indicadores de qualidade sanitária do leite.

Os meios de cultura usados foram caldo verde brilhante (BGBL) e Agar MAC CONKEY. Para as provas bioquímicas foram usados o sistema Bactray /Difco.

UNITERMOS: PASTEURIZAÇÃO
QUALIDADE SANITÁRIA
BANCO DE LEITE

109

PADRÃO DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS EM AMOSTRAS DE *ENTEROCOCCUS* ISOLADAS DE PACIENTES COMUNITÁRIOS

L. Santos Filho, A. L. Oliveira[1] & J. D. Oliveira Jr.[1], Núcleo de Medicina Tropical/CCS Campus Universitário. Universidade Federal da Paraíba. 58.069 900. João Pessoa - PB.

Introdução: A pressão seletiva provocada nos últimos anos pelo uso intensivo de antimicrobianos de atividade limitada contra *Enterococcus* tem permitido que esse patógeno prevaleça entre as bactérias causadoras de infecção grave em pacientes hospitalizados, sem que haja um estudo acerca do seu comportamento quando isolados de alguns sítios mais comuns entre pacientes comunitários. Desse modo, a adequada detecção de resistência a antimicrobianos desempenha um papel de vital importância para a eficácia do tratamento dessas infecções a nível ambulatorial.
Metodologia:Foram utilizadas amostras de *Enterococcus* selecionadas entre linhagens provenientes de secreção vaginal e urina de pacientes comunitárias. A partir de 64 cepas representativas determinou-se o nível de resistência a uma bateria de drogas, com a finalidade de estabelecer o padrão de sensibilidade a alguns antimicrobianos de rotina, e outros que podem servir como marcadores de resistência.
Resultados: No presente estudo observamos que todas as amostras foram sensíveis à Vancomicina, Teicoplanina, Ampicilina e Nitrofurantoina. Apresentaram uma sensibilidade intermediária às quinolonas e aminoglicosídeos, sendo resistentes em sua totalidade ao Aztreonam e Cefoxitina, o que nos permite traçar um perfil de comportamento a partir dessa amostragem preliminar.
Conclusões: Podemos concluir que o número de cepas apresentando resistência múltipla ainda é muito pequeno entre as amostras analisadas, e que apenas 10,9% apresentaram resistência à gentamicina, considerado um marcador de resistência de importância epidemiológica.

Palavras Chave: *Enterococcus*. Infecção, Resistência Bacteriana [1] Bolsistas PIBIC/CNPq/UFPB.

110

SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DE ESTAFILOCOCOS ISOLADOS DAS MÃOS DE SERVIDORES DOS HOSPITAIS UNIVERSITÁRIOS DE SÃO LUÍS-MA. - S.R.S. RIBEIRO; S.A.REIS FILHO & E.G.OLIVEIRA. Laboratório de Microbiologia - UFMA, Deptº de Patologia 65015-410 - São Luís - MA - Brasil.

Com o objetivo de verificar o comportamento frente aos antibióticos de amostras de estafilococos isolados das mãos de servidores da saúde, realizamos o antibiograma de 36 cepas de **S. aureus** e de 92 cepas de Staphylococcus coagulase-negativa isoladas de 96 profissionais dos Hospitais Universitários Presidente Dutra e Materno Infantil de São Luís, MA. A amostragem das mãos foi obtida através do emprego de swabs estéreis umedecidos com salina estéril, utilizando-se o ágar sangue e o ágar manitol salgado para isolamento primário. A caracterização das espécies foi efetuada através da coloração de Gram, testes da catalase e coagulase, e pela sensibilidade à novobiocina 1,6ug/ml. O antibiograma foi realizado pela técnica de difusão em ágar pelo sistema de discos. Verificou-se que os 96 indivíduos ensaiados carreavam quaisquer uma das espécies de estafilococos. Para as amostras isoladas de **S. aureus**, as penicilinas (penicilina G, ampicilina e oxacilina) foram as menos eficazes com 97%, 83% e 75% de resistência, seguida da clindamicina com 72% e eritromicina com 64%. Por outro lado, a vancomicina foi a mais ativa com 89% de sensibilidade, secundada pelo sulfazotrim e cloranfenicol com 86%. Quanto aos estafilococos coagulase-negativa os antibióticos menos eficazes foram a penicilina com 90% de resistência, a ampicilina e a eritromicina com 70%. Os que apresentaram maior sensibilidade foram a amicacina, o sulfazotrim e a norfloxacina. Os resultados demonstram o risco de disseminação hospitalar de cepas de estafilococos poli-resistentes através das mãos contaminadas dos servidores de saúde e evidencia a importância da implementação de medidas de controle de infecções hospitalares, particularmente a lavagem das mãos e o controle do uso de antimicrobianos.

(*)

* O trabalho foi realizado com os recursos do Laboratório de Microbiologia

111

FREQÜÊNCIA DE MICROORGANISMOS RESPONSÁVEIS POR ÚLCERAS DE CÓRNEA, EM EXAMES REALIZADOS NO LABORATÓRIO SÃO PAULO.

Wander M. Biasoli; Rita de Cássia C. Barbosa; Waldo P. Almeida.
Setor de Microbiologia - Laboratório São Paulo - Fortaleza - Ce.

A córnea é sede de processos infecciosos, principalmente os de origem bacteriana, virótica e fúngica que vêm, nos últimos tempos, se tornando mais freqüentes, em virtude da difusão do uso das lentes de contato com quebra da higiene, o que leva a ocasionar, ceratites, úlceras de córnea, algumas profundas, que resultam na opacificação densa, (leucoma) e até na perda da visão, e retirada do globo ocular. Os autores, utilizando método de coleta próprio, analisaram os exames de uma amostra de 94 pacientes com úlcera de córnea, nos quais observaram que: 30 (33%) eram causadas por Chlamydea sp; - 23 (24 %) por cogumelos diferentes da Cândida sp; - 12 (13%) por vírus; - 7 (7%) por bactérias diversas; - 2 (2%) por Cândida sp; - 1 (1%) por ameba de vida livre, (Acanthamoeba); - 3 (3%)) por outras causas não microbianas e 16 (17%) sem diagnóstico conclusivo, principalmente em virtude de uso intempestivo de medicamentos, o que também deve ser o responsável pelo baixo número (7%) das ocasionadas por bactérias. Visamos com esses exames auxiliar os oftalmologistas na terapia que, quando específica, irá levar a uma rápida cura da lesão e à redução dos danos à visão.

112

CONFIRMAÇÃO DA INFECÇÃO PELO HTLV EM DOADORES DE SANGUE ASSINTOMÁTICOS PELAS TÉCNICAS DE "WESTERN BLOT" (WB) E "POLYMERASE CHAIN REACTION" (PCR)

Lila M. Fernandes[1,2]; Nilo Jkuta[3]; André K. Fonseca[3]; Luis E. Steinstrasser[4]; Márcio Menna-Barreto[4]; Vagner R. Lunge[3]
[1]Dep. de Bioquímica-UFRGS; [2]Centro de Biotecnologia-UFRGS; [3]Simbios Biotecnologia; [4]Segmento HTLV- Política Municipal Controle DST /AIDS-PMPA/ RS

Um estudo comparativo entre os testes confirmatórios para HTLV, "Western Blot" (WB) e "Polymerase Chain Reaction" (PCR), foi realizado com amostras de sangue de doadores de sangue assintomáticos com ELISA positivo para HTLV.
Quarenta e seis (46) amostras de sangue foram testadas por WB usando o kit HTLV Blot 2.4/Genelabs Diagnostic Ltd. Singapore e por PCR. Para o teste de PCR, DNA total foi extraído pela metodologia de fenol-clorofórmio e submetido para amplificação utilizando pares de iniciadores ("primers") homólogos para a região *pol* do genoma viral. Produtos de PCR foram digeridos com *Rsa* I e *Taq* I, para tipagem do HTLV, submetidos a eletroforese em gel de poliacrilamida 12,5% e visualizados após coloração com prata.
Os resultados obtidos estão sumarizados na tabela abaixo:

	PCR-RFLP			
Western Blot	HTLV-I	HTLV-II	Negativo	Total
Positivo HTLV - I	10	-	2	12
Positivo HTLV - II	-	5	-	5
Positivo HTLV - I e II	3	-	-	3
Positivo não tipado	1	1	-	2
Indeterminado	-	-	24	24
Total	14	6	26	46

A alta incidência de WB indeterminado com PCR negativo (52%) provavelmente indicam resultados de ELISA falso positivos enfatizando o uso de testes confirmatórios. Casos em que não houve concordância entre WB e PCR (WB positivo e PCR negativo) estão sendo acompanhados e novas análises de WB e PCR deverão ser realizadas depois de um período de 3 meses.

113

Utilização do Terdley 3% na conservação de plasmas para detecção molecular (RT-PCR) e genotipagem do Vírus da Hepatite C (HCV)

André S.K. Fonseca, Nilo Ikuta e Vagner R. Lunge.
SIMBIOS BIOTECNOLOGIA - Porto Alegre-RS

Uma das grandes dificuldades para a detecção e genotipagem molecular do Vírus da Hepatite C (HCV) é a labilidade do RNA viral que exige uma série de cuidados para a coleta, conservação e transporte das amostras a serem analisadas. Este trabalho teve como objetivo testar a eficiência do Terdley 3% como estabilizante do RNA viral para análises de RT- PCR e genotipagem do VHC.

Foram avaliados 6 plasmas, previamente analisados (HCV RNA positivos), que foram submetidos a 3 tratamentos: I) sem Terdley 3%, mantido em freezer -20° C, II) sem Terdley 3%mantido à temperatura ambiente e III) com Terdley 3% mantido à temperatura ambiente. A detecção do RNA viral por RT-PCR foi realizada após 10 dias segundo KRUG et al. **(Braz. J. Med. Biol. Res. 29: 1629-1632, 1996)** .

Confirmou-se a positividade das amostras em todos os plasmas dos tratamentos mantidos em freezer como também no Terdley 3%. Nas 6 amostras mantidas à temperatura ambiente sem o Terdley 3%, detectou-se o RNA viral somente em duas amostras, comprovando a labilidade das mesmas.

O Terdley 3% tem sido utilizado na rotina de coleta de plasmas para a detecção molecular (RT-PCR) e genotipagem do HCV. Até o momento 218 plasmas HCV positivos consevados neste estabilizante já foram submetidos à análise. Foi possível a realização da genotipagem de todas as amostras, sendo que 21.56% eram do genótipo 1a, 25.23% do genótipo 1b, 5.04% do genótipo 2 e 48.16% do genótipo 3.

114

DETECÇÃO DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM AMOSTRAS DE COLO UTERINO PELA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE ("PCR")

André Salvador Kazantzi Fonseca[1], Bernadette Nonnenmacher[2], Luiza Lina Villa[3], Vagner Ricardo Lunge[1], Carla Streit[1] e Nilo Ikuta[1].
[1]Pesquisadores da SIMBIOS Biotecnologia; [2]aluna de doutorado do CPG em Clínica Médica /UFRGS, [3]Pesquisadora do Instituto Ludwig

Neste trabalho foi realizado uma análise comparativa dos exames Citopatológico, Colposcópico e "PCR" de 461 amostras de pacientes da região metropolitana de Porto Alegre.

Resultados sumarizados da avaliação de colposcopia (Colpo), exame citopatológico(CP) e PCR

	HPV - PCR positivos				
CONDIÇÃO	GEN (n)	TAR	TRI	TBR	TND
CP(-) e Colpo(-)	27/357	10/357	0/357	2/357	13/357
CP(-) e Colpo(+)	5/62	2/62	0/62	0/62	3/62
CP(+) e Colpo(-)	6/30	1/30	2/30	1/30	2/30
CP(+) e Colpo(+)	9/11	5/11	2/11	1/11	1/11
TOTAL	47/460	18/460	4/460	4/460	19/460

(n) - representa o total de casos estudados em cada condição.
GEN (HPV genérico), TAR (tipo alto risco), TRI (tipo risco intermediário), TBR (Tipo de baixo risco) e TND (tipo de risco não determinado).

O PCR demonstrou ser uma técnica eficaz na detecção e tipagem virais, apresentando maior sensibilidade do que os exames citopatológico e colposcópico. Com relação ao material submetido à tipagem (47 amostras), observou-se os tipos de alto risco em 18, ressaltando-se, inclusive, 12 casos de CP negativo e 11 com colposcopia normal. Foram detectados 4 casos de HPV de risco intermediário, 2 dos quais com lesão de alto grau, e 4 casos com HPV de baixo risco, sem lesão de alto grau. Nos 19 casos observados de HPV de risco não determinado, houve 2 amostras relacionadas com lesões de baixo grau, ambos com HPV tipo 53. Não foi possível a realização da tipagem em 2 casos.

115

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE *ACINETOBACTER CALCOACETICUS*, ISOLADO DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO (LCR). RELATO DE UM CASO (1) (2)

Raíssa Mayer Ramalho Catão. Adelina Rosa de Castro Lopes.
(1) CCBS-UEPB; (1), (2) DIAGNOSE - Clínica de Análises Especializadas -Ltda. Campina Grande - PB.

O gênero *Acinetobacter* é constituído por bastonetes Gram-negativos curtos, podendo algumas vezes apresentar-se como coco-bacilos . São ubíquos e têm sido recentemente incluídos entre os agentes oportunistas emergentes em infecção hospitalar apresentando crescente resistência aos antimicrobianos. Geralmente são encontrados em infecções do trato respiratório inferior e superior, porém podem provocar diversos processos infecciosos. O objetivo deste trabalho é relatar um caso de meningite por ***Acinetobacter calcoaceticus***. Líquor de um paciente de 26 anos de idade com suspeita clínica de meningite, foi encaminhado ao laboratório de bacteriologia onde imediatamente iniciaram-se os exames solicitados: bacterioscopia pelo método de Gram, (tendo-se observados raros cocobacilos Gram-negativos) e cultura, usando-se para o semeio inicial os seguintes meios de cultura : Agar Thayer Martin, Agar Sangue, Agar EMB e caldo BHI. O primeiro foi incubado numa tensão de 5 a 10 % de CO2 à 37 C por 48 horas (em condições de microaerofilia, visto que havia suspeita de meningite meningocócica), os demais fora incubados à 37 C por 24 horas em condições de aerofilia). Houve crescimento em todos os meios inoculados e através das características coloniais e morfológicas, descartou-se a possibilibade da suspeita de meningite meningocócica, uma vez que a bactéria isolada cresceu em todos os meios de cultura, inclusive no EMB (eosine-methylene blue), sendo identificada através das provas de comportamento bioquímico, nos meios de TSI, SIM, Citrato de Simmons, Uréia, VM, VP, OFglicose e Oxidase, como ***Acinetobacter calcoaceticus***. O antibiograma realizado pelo método de Kirby-Bauer, demonstrou melhor sensibilidade as seguintes drogas: amicacina, cloranfenicol, estreptomicina, gentamicina, lomefloxacina, netilmicina, tobramicina, e aztreonama. Com base nestes dados, ressalta-se a importância do gênero *Acinetobacter* entre as bactérias responsáveis por infecções oportunistas além de suas limitadas opções terapêuticas.

116

ESTUDO COMPARATIVO DE 360 AMOSTRAS PARA HEMOCULTURAS POR MÉTODO AUTOMATIZADO E MANUAL

MOREIRA,L.E.;SCARPA,J.C.; CAVANAGHI,R.M.;MOREIRA,L.H.; ROSA,R.C.;MOREIRA,A.D.;LUPPINO,P.L.

FUNDAÇÃO FACULDADE DE MEDICINA DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO LABORATÓRIO CENTRAL. SETOR DE MICROBIOLOGIA .
AVENIDA BRIGADEIRO FARIA LIMA, 5416 B. SÃO MANOEL

RESUMO: 360 amostras para Hemoculturas coletadas em Hospital Geral, foram inoculadas em frascos BACTEC para aeróbios e anaeróbios (contendo resinas para inativação de antibióticos),frascos aeróbios e anaeróbios (sem resinas) e frascos contendo meios BHI com SPS produzidos no Laboratório (repiques com 0h,24h,48h,144h e 139dia). Todos pacientes estavam internados, a inoculação em todos os frascos foi feito imediatamente após a punção .

CONCLUSÃO :- A redução significativa do tempo de positividade, da contaminação e tempo de manuseio dos frascos BACTEC, além de elevar sobremaneira o percentual de positivação, recomendam a utilização metodológica automatizada em serviços Hospitalares, apesar do custo ser superior .

117

HIV-1: "Viral load" e correlação com Agp24.

Noronha JT, Simonetti JP, Spitz GM, Costa KCF, Matos HTT, Piazza A e Simonetti SRR.

Laboratório Lâmina, Setor de Virologia e Biologia Molecular -Rio de Janeiro- RJ- Brasil.

Estudo comparativo entre as concentrações de Agp24 e número de cópias de RNA-HIV extracelular foi feito em 120 amostras de plasma de pacientes HIV- positivo, analisadas no período entre maio a outubro de 1996. As concentrações de Agp24, detectado por teste imunoenzimático (HIV-1p24 Antigen Assay- Coulter), foram expressas em pg/ml. A estes valores correlacionamos a carga viral ("Viral load"), definida pela detecção do RNA-HIV em plasma. O método utilizado para sua quantificação foi o de PCR (Amplicor HIV Monitor-Roche). As amostras foram tratadas para a extração do genoma com reagente de lise contendo tiocianato de guanidina e RNA padrão de quantificação. Os RNAs extraídos foram precipitados com álcool isopropílico e etílico 70% e submetidos à amplificação com primers da região GAG do HIV (SK431 e SK462). Os produtos de amplificação (amplicons biotinilados) foram detectados e quantificados em placas de titulação, através da adição de avidina ligada à peroxidase e os resultados expressos em número de cópias de RNA-HIV/ml de plasma. Das 120 amostras analisadas, 100 mostraram-se não reativas para Agp24; as 20 reativas apresentaram níveis variando entre 5 e > 125pg/ml. Os resultados obtidos em PCR demonstraram que todas as amostras possuíam carga viral detectável, com valores entre 575 e 3.484.413 cópias RNA-HIV/ml plasma. A análise comparativa dos resultados não evidenciou uma correlação entre carga viral e níveis detectáveis de Agp24, ou seja, não houve, necessariamente, correspondência entre uma elevada carga viral e elevada concentração antigênica. Porém, observamos maior incidência de positividade de Agp24 em indivíduos que apresentaram-se com carga viral mais elevada (12/20; 60%), entre 51.532 e 2.202.052 cópias de RNA viral/ml plasma.

118

Infecções Urinárias em Gestantes - Período 95.2 a 96.1. - Natal/RN.

BARBOSA, Carla Elenuska Fernandes; ABRANTES, Maiza Rocha; SILVEIRA, Ivanaldo Amâncio da; RODRIGUES, Marcos Adriano Gomes.

Local da Realização do Trabalho: *Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas do Centro de Ciências da Saúde (Faculdade de Farmácia) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) e Maternidade Escola Januário Cicco (UFRN).*
Endereço do Local de Realização do Trabalho: *Av. General Cordeiro de Farias s/n - Petrópolis*
Especialidade que será classificada o trabalho: *(1) Microbiologia ou Micologia.*

A gestação é um fator de predisposição à infecções urinárias e esta se não tratada poderá induzir a risco de anemia, hipertensão e parto-prematuro. Diante disto resolvemos realizar este estudo com gestantes que solicitavam através de requisições de uroculturas o Laboratório de Microbiologia Clínica do DACT no período de junho de 1995 a julho de 1996, com o objetivo principal de avaliar os casos positivos, microorganismos envolvidos, sensibilidade a antimicrobianos e o período gestacional de maior incidência. Foram avaliados 196 casos de pacientes com suspeita de infecção urinária onde a freqüência de positividade foi de 30 (15,30%), ficando assim um percentual de 166 ((84,70%) para casos sem infecção. Dentre os agentes etiológicos isolados, concordando com a bibliografia, a *E. coli* foi a bactéria mais freqüente correspondendo a um percentual de antibióticos de 19 (9,7%). Com relação ao teste de sensibilidade a antimicrobianos, os estudos revelam que os antibióticos de melhor sensibilidade frente a *E. coli* são os seguintes: Amicacina, Cefotriaxona, Nitrofurantoína, Norfloxacin, Ácido Pipemídico e a Gentamicina.

119

UTILIZAÇÃO DE SONDAS SE DNA PARA DIAGNÓSTICO DE VAGINITES E VAGINOSES.

N. Souza, C. Oplustil, W. Francisco, C. Mendes. Seção de Microbiologia Laboratório Fleury.

Um número considerável de secreções vaginais são processadas diariamente nos laboratórios de Microbiologia, para o diagnóstico de vulvovaginites. Os microrganismos mais frequentemente envolvidos neste tipo de infecções são, *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis* e *Candida* spp. Os métodos empregados tradicionalmente no laboratório (bacterioscopia após coloração pelo método de Gram, exame direto a fresco e cultura) são métodos em geral rápidos mas que requerem técnicos especializados para realizar corretamente o exame. O Affirm VP III é um sistema rápido que utiliza a metodologia de sondas de DNA para o diagnóstico de infecções vaginais causadas por *G. vaginalis*, *T. vaginalis* e *Candida* spp em um único teste.
O objetivo deste estudo foi verificar se o Affirm VP III possui boa sensibilidade e especificidade quando comparado com os métodos tradicionalmente empregados para o diagnóstico de vulvovaginites.
Neste estudo, 56 pacientes que apresentavam sintomas de vulvovaginites foram selecionadas e o material vaginal foi processado para bacterioscopia, cultura, exame a fresco e o teste com sondas de DNA. Das 56 amostras analisadas, 10 foram positivas na cultura para *G. vaginalis* e 14 para *Candida* spp. O Affirm VP III detectou 13 amostras positivas para *G. vaginalis* e 9 para *Candida* spp e na bacterioscopia 9 amostras apresentaram G. vaginalis e 11 Candida spp. Todas as amostras foram negativas para *Trichomonas vaginalis* pelo exame a fresco e pela metodologia de sondas. O Affirm VP III detectou *G. vaginalis* em quatro amostras que apresentaram cultura negativa para este microrganismo. Nestas amostras uma apresentou crescimento de *Bifidobacterium dentium* que pode mostrar reação cruzada com *G. vaginalis*. Das cinco amostras com resultado negativo para *Candida* spp pelo Affirm, três foram também negativas pela bacterioscopia, indicando que o número de microrganismos presentes era pequeno. O teste mostrou 81% de sensibilidade e 100% de especificidade na detecção de *Candida* spp e 90% de sensibilidade e 93% de especificidade na detecção de *G. vaginalis*. O Affirm VP III é um sistema automatizado para detecção de microrganismos causadores de vulvovaginites e mostrou ser uma boa alternativa em relação às metodologias de cultura e pesquisa direta após coloração de Gram, para o diagnóstico destas infecções.

120

Incidência de Aloimunização em Gestantes Rh Negativo da Maternidade Escola Assis Chateaubriand.

Autor: João Augusto Lima Neto

Foram estudadas 431 mulheres para uma possível imunização Rh.
A incidência de imunização foi de 3,9% das quais 2,8% por anti-D, 0,2% por anti-D + anti-C, 0,2% por anti-D + anti-C + anti-Kell e 0,7% por anticorpos não identificados.
Foi concluído que 96,1% das mulheres grávidas necessitavam o uso da imunoglobulina Rh, para a prevenção da doença hemolítica do recém-nascido.

121

LTA NO AMAZONAS: DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO E IMUNOLÓGICO (IFI) NA LEISHMANIOSE CUTÂNEA (DADOS PRELIMINARES)

Leila Inês Aguiar Raposo da Câmara Coelho, Roosevelt Soares, José Ulisses de Souza, Jorge Augusto de Oliveira Guerra & Marcilene Gomes Paes.

O imunodiagnóstico através da Imunofluorescência Indireta (IFI) é importante nas Leishmanioses Visceral (LV) e Tegumentar Americana(LTA) na forma Mucosa (LM). A valorização da reatividade da IFI na Leishmaniose Cutânea (LC) é questionável para diagnóstico. Querendo avaliar os resultados para IFI na LTA/LC em pacientes da Amazônia Ocidental, examinou-se amostras de soros de pacientes da procura hospitalar do IMT-AM no ano de 1996. Os antígenos utilizados foram de promastigotas completas, das cepas 2682 *Leishmania (Leishmania) chagasi*; 81889 L. *(L.) amazonensis)* e o antígeno padrão recomendado pelo Ministério da Saúde e distribuído pela FIOCRUZ/RJ. Em 1996 foram analisadas 206 amostras de soro de pacientes com diferentes formas de Leishmaniose e dentre estas, 83 amostras (40%), foram de LC. Comparou-se os resultados da IFI de 42 pacientes com LC, com os resultados de seus exames parasitológicos e observou-se que 50% deles, foram positivos na pesquisa direta(21 amostras), enquanto que na IFI apenas 11 amostras (aproximadamente 26%) foram reativos. As 11 amostras reativas, representam 5% do total de amostras de soros analisados para as Leishmanioses em geral, 13 % em relação as amostras de suspeitos de LC e 52.4% das LC positivas. Foi estabelecido que todas as amostras estudadas teriam uma diluição padronizada de 1:20 até 1:1.280. A distribuição dos títulos foi a seguinte para todos os antígenos analisados: 31 soros não - reativo; 01 reativo até 1:20; 02 reativos até 1:40; 04 reativos até 1:80 também e 04 reativos até 1:160. Os 21 soros restantes (50%) foram negativos em todos ao antígenos usados. Em 8 (72.7%) dos soro reativos houve concordância nos resultados, com ex. parasito-positivo; os 3 restantes foram positivos em um ou outro exame. A maioria dos pacientes não informou outras doenças. Esses resultados preliminares, estão demonstrando que a IFI pode ser uma opção no diagnóstico da LC, na ausência de condições de realização do exame parasitológico.

Orgãos financiadores : IMT-AM e UFAM

122

ENERGIA FECAL DE LACTENTES SOROPOSITIVOS PARA O VIRUS HIV. C. M. S. Gomes; M. A. Mariano; A. L. Cardoso; L. Hamamoto; F. R. Carrazza. Laboratório e Grupo de Nutrição do ICR-HCFMUSP - São Paulo - Brasil.

O estudo da Nutrição na área Pediátrica tem como meta prioritária contribuir para o desenvolvimento normal da criança. Novas técnicas laboratoriais estão sempre sendo desenvolvidas com esse fim. O Objetivo do presente estudo foi o de determinar a quantidade de Energia Ingerida (EI) e eliminada pelas Fezes (EF), nas crianças soropositivas para o HIV, comparando com os valores obtidos em lactentes normais. Alem disso também objetivou-se apresentar a metodologia empregada nessa mensuração.

A EI e a EF de 10 lactentes soropositivos para o vírus HIV e de 16 lactentes não infectados, foram determinadas através de uma Bomba Calorimétrica - marca PARR - modelo 1271, obtendo-se o valor energético em kcal/kg/dia. A metodologia empregada permite que se obtenha valores mais precisos das amostras avaliadas.

O estudo demonstrou que a EF foi maior no grupo soropositivo (15.5 kcal/kg/d), em relação ao grupo controle (4.2 kcal/kg/d) - ($p < 0.05$), sugerindo a ocorrência de uma disfunção intestinal. A EI e o percentual da relação EF/EI entre os infectados e não infectados foram semelhantes. Esses resultados são concordantes com aqueles encontrados por outros autores, e contribuem para o aperfeiçoamento da terapêutica de pacientes de alto risco do ponto de vista nutricional.

123

RELATO DE UM CASO: IDENTIFICAÇÃO DA BACTÉRIA SPOROSARCINA UREAE NO MIELOGRAMA GUIMARÃES, M. C. M. N.; BOCCATTO, E.; VALLADA, M.; COSTA, M. B. G. Laboratório do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil.

Descrevemos a presença da bactéria em amostra de medula óssea obtida por punção aspirativa de crista ilíaca em uma criança de 13 anos com quadro clínico de insuficiência renal progressiva devido a raridade do evento em medula óssea.

As amostras de medula óssea apresentaram presença de cocos aos pares e isolados e foram processadas para pesquisa das bactérias através da reação de GRAM. Nesta, foram observados cocos Gram Positivos isolados ou em pequenas formações específicas (tétrades) sugerindo Sporosarcina sp.

Devido ao quadro clínico de processo renal crônico pensou-se em Sporosarcina ureae.

O cultivo de urina em meio específico, confirmou a presença da bactéria sugerida, com positividade para uréia entre a série bioquímica habitual testada.

Após a introdução do tratamento apropriado, houve recuperação clínica.

O caso demonstra a importância desta identificação que proporcionou o diagnóstico com tratamento eficaz.

124

COMPORTAMENTO DA PROTEÍNA C-REATIVA SÉRICA NO ACOMPANHAMENTO DE CRIANÇAS COM MENINGITE BACTERIANA.** **Maricy A. Ribeiro[1], Robério D Leite[2], Suzy H P Almeida[1], Calil K Farhat[2] [1]Instituto Adolfo Lutz **; [2] Escola Paulista de Medicina. **Seção de Imunologia, Av Dr Arnaldo 365, 11º andar, São Paulo, SP, CEP 01246-902**

Foram estudadas prospectivamente 22 crianças com meningite bacteriana, com o objetivo de acompanhar as concentrações da proteína C-reativa (PCR) no soro coletado à admissão, segundo, quinto e sétimo dias de tratamento, e no líquido cefalorraquidiano (LCR) coletado na admissão, e correlacioná-las com a evolução clínica. A PCR foi medida pelas técnicas de aglutinação com partículas de látex e/ou ELISA, com níveis de detecção de 0,15 mg e 0,9 µg PCR/ L, respectivamente. Os pacientes foram classificados quanto à evolução nos grupos com (n=10) e sem (n=12) complicação clínica. As complicações clínicas observadas foram: recidiva de febre, febre persistente, artrite, dilatação de ventrículo, coleção subdural, empiema subdural, ataxia, hipotonia cervical, hipoacusia, hipópio secundário à endoftalmite, otite média aguda, piodermite, e suspeita de resistência ao antimicrobiano. Não houve diferenças entre os grupos de evolução clínica com e sem complicação quanto ao sexo, idade e intervalo de tempo entre o início dos sintomas e a admissão. No grupo de evolução clínica sem complicação houve queda significante dos níveis séricos da PCR a partir da admissão. No grupo de evolução clínica com complicação, após uma queda inicial da PCR até o quinto dia, ocorreu uma reascenção ou persistência de níveis elevados no sétimo dia. As médias das concentrações da PCR (mg/L) nas amostras de soro dos grupos com e sem complicação clínica foram, respectivamente: 537,6 e 656, na admissão; 403,2 e 272,8, no segundo dia; 176,4 e 46,1, no quinto dia; e 434,9 e 17,6, no sétimo dia. No LCR, à admissão, esses valores foram, respectivamente, 16,4 e 7,4. As concentrações séricas de PCR, no grupo de evolução clínica sem complicação, foram significantemente inferiores às observadas no grupo com complicação, quando comparados os valores do quinto (U calculado=18,5; U crítico= 29) e do sétimo (U calculado=3 ; U crítico= 29) dias. Concentrações séricas da PCR menores ou iguais a 20 mg/L, no quinto ou no sétimo dia de internação,estiveram associadas a uma evolução clínica sem complicação, e valores maiores que 20 mg/L, nestes mesmos dias, estiveram associados a uma evolução com complicação (p=0,01 e p=0,0015,respectivamente). Concluí-se que a monitorização da PCR sérica constitui um parâmetro objetivo e útil no acompanhamento da evolução clínica de crianças durante o tratamento da meningite bacteriana.

125

TITULO: EVOLUÇÃO DOS NÍVEIS DE BETA-HCG APÓS TRATAMENTO SISTÊMICO COM METHOTREXATE NA PRENHEZ ECTÓPICA ÍNTEGRA.

AUTORES: ISKANDAR, L.A; UCHIYAMA, M; ELITO, J.J; TUFIK, S; CAMANO, L.
LOCAL: DISCIPLINA DE OBSTETRÍCIA E AFIP (EPM-UNIFESP).

OBJETIVO: O tratamento sistêmico da prenhez ectópica (PE) íntegra com methotrexate (MTX) se tornou conduta alternativa para tradicional atitude cirúrgica. O acompanhamento dos casos é realizado com dosagens seriadas de beta-hCG, já que e imagem ultra-sonográfica persiste por um tempo prolongado sendo um parâmetro ruim de seguimento. O objetivo do nosso estudo é de avaliar o comportamento da curva de beta-hCG após a ministração do medicamento.
PACIENTES E MÉTODO: Foram incluídas neste estudo pacientes estáveis hemodinamicamente, com massa anexial menor ou igual a 4,5 cm, sem sinais de doença hepática, renal ou supressão da medula óssea. O tratamento foi feito com MTX 50 mg/m2 IM (dose única) em regime de internação. Vinte e quatro pacientes fizeram parte deste trabalho e foram acompanhadas com dosagens de beta-hCG nos dias 1, 4 e 7 pós MTX. Casos onde os títulos de beta-hCG caíram acima de 15% entres os dias 4 e 7 receberam alta hospitalar e foram acompanhadas semanalmente até a sua negativação. Por outro lado quando esta queda era inferior a 15% estas pacientes receberam nova dose de MTX. MÉTODO: Enzima Imuno Ensaio TOSOH. V.N. NÃO GESTANTES: inferior a 5.0 MUI/ml, GESTANTES: superior a 5.0 MUI/ml, Limite de Sensibilidade: 0.5 MUI/ml.
RESULTADOS: Doze (50,0%) dos 24 casos tiveram autmento dos títulos de beta-hCG nos quatro primeiros dias após a administração IM de MTX, oito (33,3%) apresentaram queda paulatina dos valores e em quatro (16,7%) casos ocorreu a negativação dos valores de beta-hCG no quarto dia pós MTX. Apenas duas pacientes (8,3%) necessitaram de segunda dose de MTX por não ter havido queda dos títulos de beta-hCG superior a 15% entre o quarto e o sétimo dia.
CONCLUSÃO: O aumento dos valores de beta-hCG pode chegar até 25% do seu valor inicial por volta do quarto dia pós MTX e se deve a dois fatores: a aceleração inicial do metabolismo de beta-hCG pelo MTX e a destruição trofoblástica celular que aumenta o "pool" sistêmico. O conhecimento desta evolução inicial na concentração de beta-hCG evita intervenções desnecessárias na primeira semana do tratamento.

FONTE FINANCIADORA: AFIP

126

PREVALÊNCIA DE HEPATITE B EM INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO HIV NA REGIÃO DA GRANDE FLORIANÓPOLIS.

Treitinger, A.*; Spada, C.*; Ferreira, L.A. P *; Lima, K. C.*; Schwendler, R. R.*; Santos, H.;* Strazzer, M. N.**; Reis, M.**

* Departamento de Análises Clínicas, CCS/UFSC, CEP 88040-900, Florianópolis, SC.
** Laboratório de Análises Clínicas, HU/UFSC

No período de maio de 1994 a fevereiro de 1995, 95 amostras de soro positivas para infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV-1), por ensaio imunoenzimático (ELISA) e por imunofluorescência indireta foram coletadas de indivíduos dos diferentes grupos sócio econômicos da população residente na grande Florianópolis. O objetivo desse trabalho foi verificar a prevalência de hepatite "B". Os indivíduos, após triagem clínica realizada por médicos infectologistas, foram classificados conforme proposto pelo Walter Reed Army Institute, como WR 1, WR 2 WR 3 e WR 4. A hepatite "B" foi caracterizada através da determinação de HBsAg, anti HBc-IgG e anti HBc-IgM realizada por ensaios imunoenzimáticos indiretos, utilizando conjuntos reativos produzidos pela Abbott e Behring, respectivamente. A prevalência de hepatite "B" nos indivíduos soro positivos para o HIV-1 da região da grande Florianópolis é de 69,5%, caracterizando infecção aguda e hepatite "B" recente. Em relação aos marcadores de hepatite "B", verificou-se que 18,9% eram soro reagentes para HBsAg, 66,3% para anti HBc-IgG e 1,05% para anti HBc-IgM. Dos indivíduos avaliados 01 encontrava-se em janela imunológica, no qual o marcador HBc foi o único encontrado e 40% foram simultaneamente soro positivos para as hepatites "B" e "C".

Apoio: Ultralab, Behring e HU/UFSC

127

Tempo Aceitável para Dosagem de Cálcio Ionizado por Eletrodo Íon Seletivo

Correa, Giseli Palo; Figueiredo, Dalcélia Bueno ; Laboratório de Análises Clínicas Hospital e Maternidade Celso Pierro - HU da PUCCAMP

Palavra chave : Cálcio Ionizado

Objetivo :O objetivo do presente estudo é estabelecer o tempo aceitável para a realização da dosagem do cálcio ionizado por eletrodo íon seletivo, considerando-se a interferência do pH na sua concentração.
Materiais Métodos : Foi realizado a dosagem de cálcio ionizado em 52 amostras de soro de pacientes ambulatoriais coletado em vacuotainer descartando qualquer suspeita clínica da alteração deste íon. Foram realizadas as dosagens de cálcio ionizado no aparelho AVL988-3 nos tempos zero (30 minutos, 1 hora, 1 hora e trinta minutos e 4 horas).O tempo zero foi considerado como sendo aquele imediatamente após a abertura do tubo de vacuotainer.
Resultado : Foi obtido uma variação de 3% a menos que a dosagem inicial após 30 minutos da abertura dos tubos, chegando a 15% a menos que a dosagem inicial após 4 horas da abertura dos tubos.
Conclusão : Observou-se que há diminuição progressiva dos valores do cálcio ionizado, em função da exposição do material ao ar ambiente, na dependência do tempo e da variação do pH. A variação dos valores de pH, ocorre pela incorporação do O_2 ambiente à amostra, portanto, quanto mais tempo decorrer entre a abertura do tubo e a realização da análise, maior será a elevação do pH e com consequente diminuição dos valores do cálcio ionizado. Considerando-se o estreito intervalo de referência do cálcio ionizado 1,10 a 1,30 mmol/L, frente aos dados obtidos, constatou-se que os resultados considerados aceitáveis , são os obtidos no intervalo máximo de 30 minutos após a abertura do tubo. Pelo trabalho desenvolvido, o nosso serviço passou a ter como normatização que as dosagens de cálcio ionizado sejam efetuadas no máximo 30 minutos após a abertura do tubo de coleta.

128

DIAGNÓSTICO E ACOMPANHAMENTO SOROLÓGICO E CLÍNICO DE PACIENTES COM PARACOCCIDIOIDOMICOSE ATENDIDOS NOS AMBULATÓRIOS DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO/UFMS.

Dina Nazaice A. Militão (Orientadora); Alexandra Regina Casarin, Wilson Matsumoto (Bolsistas); Joana Hokama Katayama, Isa H. Akamine, Zoilo P. Camargo, Pedro N. Dobashi, Ana Maria Paniago (Colaboradores). (Departamentos de Farmácia-Bioquímica e Clínica Médica, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul).

A paracoccidioidomicose (Pbmicose) é uma infecção causada pelo fungo dimórfico, ***Paracoccidioides brasiliensis***. É uma endemia rural de grande importância em várias regiões do Brasil. O Estado de Mato Grosso do Sul apresenta grande número de casos e há compatibilidade de características fisiogeográficas com a epidemiologia dessa micose. Os objetivos deste trabalho são: diagnosticar laboratorialmente os casos suspeitos de Pbmicose através do Teste de Imunodifusão em gel de ágar (ID); acompanhar sorológica e clinicamente os pacientes em e pós-tratamento e avaliar a resposta imune celular através de intradermorreação com Paracoccidioidina. De agosto de 1994 a junho de 1996 foram analisados 178 pacientes com suspeita de Pbmicose, provenientes da triagem dos ambulatórios do Núcleo do Hospital Universitário/NHU. O método utilizado foi Imunodifusão em gel de ágar. Dentre estes 178 pacientes, 96 (53,9%) tiveram seu diagnóstico confirmado e 82 pacientes (46,1%) possuem outras patologias. Dentre os 96 pacientes diagnósticados com Pbmicose, 24 (25%) são casos novos e 72 (75%) já estão em tratamento. Até o momento foi possível avaliar a imunidade celular em 20 pacientes, sendo que 08 apresentaram reatividade e 12 foram não reatores. Considerando o alto índice de positividade para Pbmicose na nossa região, ressaltamos sobre a especificidade do teste ID para o diagnóstico dessa micose, além de ser útil no monitoramento dos pacientes em que a queda dos títulos de anticorpos significa uma melhora clínica.

Apoio: CPQ-PROPP/UFMS

129

Importância e Dificuldades na quantificação precisa do beta-hCG em pacientes com Doença Trofoblástica Gestacional (DTG).

Autores: Campestrini, Delfi Tedesco; Uberti, Elza Maria Hartmann; Diestel, Maria do Carmo Fajardo; Lacerda, Maria Elaine; Ludwig, Monica Kruger; Pereira, Giovana; Blanchon, Cristine & Ricachenevsky, Cleber.
Local: Centro de Doenças Trofoblásticas (CDT) e Setor de Imunologia do Laboratório Central da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - RS. Rua Prof. Annes Dias, 285 - Porto Alegre - RS CEP 90020-090 fone: (051) 228.1566 - ramais 1012 e 1160 (27); fax: (051) 227.4040
Especialidade para classificação: Imunologia ou Sorologia

Objetivos: Salientar as dificuldades encontradas na determinação precisa do beta-hCG quantitativo que é o marcador biológico fundamental no controle das pacientes que tiveram Mola Hidatiforme (MH) não complicada e outras formas tumorais de DTG.

Pacientes e métodos: Ao longo de 12 anos de acompanhamento prospectivo de 441 pacientes com todos os tipos de DTG, cada paciente realizou, segundo o protocolo do CDT, dosagens semanais de beta-hCG quantitativo até 3 resultados negativos consecutivos (remissão de doença), seguidas de dosagens mensais por mais 6 meses. Nesse momento, as pacientes com MH não complicada recebiam alta do controle pós molar; as que tivessem necessitado de tratamento quimioterápico para atingirem a remissão da doença continuavam as revisões com dosagens bimensais da gonadotrofina coriônica por mais 6 meses, passando posteriormente para controle semestral por mais 4 anos nos casos de DTG não-metastáticos ou, indefinidamente, quando as pacientes tivessem apresentado metástases à distância. Vários métodos de dosagem do beta-hCG foram empregados ao longo dos 12 anos; desde outubro de 1996, vem sendo utilizada a **quimioluminescência automatizada** (ACS 180 Plus - Ciba Corning). Na evolução do acompanhamento de cada paciente, a curva individual de regressão do beta-hCG era comparada com a curva padrão proposta por Schlaerth.

Resultados: De 20 de abril de 1995 a 5 de março de 1997, foram realizadas 2067 dosagens plasmáticas beta-hCG quantitativo. Notou-se que, em 10,8% dos casos (225 exames), havia necessidade de repetição dos testes, por não corresponderem às expectativas previstas em relação aos exames anteriores das pacientes e / ou à curva padrão. Essas dosagens foram repetidas e, se ainda discordantes, solicitava-se nova coleta de material. Em 187 dessas avaliações (83%), os exames repetidos resultaram valores que se enquadraram com o esperado pelo quadro clínico da paciente (portanto, resultados falsamente anormais em 9% do total dos testes); a repetição dos outros 17% confirmou o resultado anômalo anterior, necessitando as pacientes realizarem nova coleta para definir a conduta a seguir. Vários fatores foram identificados como responsáveis pelos resultados não confiáveis (falsamente altos ou baixos): diferenças entre os "kits" utilizados, hemólise ou lipemia do plasma, critérios de armazenamento das amostras de sangue desde a coleta até a realização dos exames, aspectos técnicos relativos à diluição do sangue especialmente quando os títulos esperados fossem muito elevados e acima do limite máximo de detecção do método.

Conclusões: Os autores salientam a importância do conhecimento, pela equipe multiprofissional que acompanha o tratamento das pacientes, de todos os fatores que podem influenciar no resultado do beta-hCG quantitativo. Listam as principais dificuldades e reforçam também que, no controle de uma paciente em particular, os exames devem ser preferentemente feitos no mesmo laboratório, com a mesma metodologia e interpretados criteriosamente, uma vez que muitas vezes é apenas esse resultado o parâmetro que definirá a introdução ou a mudança de um tratamento quimioterápico antineoplásico e / ou a associação de uma terapêutica cirúrgica também agressiva.

130

COMPARAÇÕES METODOLÓGICAS EM FUNÇÃO TIREOIDEANA

Este trabalho teve a intenção de comparar três metodologias distintas nas Análises Tireoideanas. Pegamos 50 pacientes de diferentes unidades, sexo e idade. Fizemos para cada paciente dosagens de T3, T4 e TSH por Radioimunoensaio, usando DPC - MedLab, Quimioluminescência pelo Sistema Access Sanofi-Pasteur e finalmente por Fluorimetria pelo sistema, totalmente automatizado, Auto - Delfia.

Resultados nas Dosagens :

Hipertireoidismo	24%	12 pacientes
Hipotireoidismo	14%	07 pacientes
Eutireoidismo	26%	13 pacientes
Pacientes com Hipo por TSH	30%	15 pacientes
Pacientes com T4 alterado	02%	01 paciente
Três dosagens altas	02%	01 paciente
Três dosagens baixas	02%	01 paciente

Conclusão :

Correlacionando as metodologias nos hipertireoidianos, tivemos seis casos, ou seja, 50% do nosso diagnóstico, obtivemos resultados diferenciados nas metodologias testadas.

Nos hipotireoidismos tivemos um caso, ou seja, 14% dos nossos pacientes tiveram diferenciações nas metodologias correlacionadas.

Para nossos pacientes com perfil Eutireoideano tivemos dois casos, ou seja, 15% dos pacientes tiveram uma disfunção para com as metodologias.

Finalmente nos hipotireoidismos parciais, ou sejam, nos casos relacionados com o TSH, tivemos apenas um caso, ou seja, 6,6% de diferenciação entre as metodologias.

Gostaríamos de salientar que o intuito do mesmo não é de aprovar nem tão pouco de desaprovar metodologias mas sim, mostrar que todas disfunções para com resultados obtidos por mesmas metodologias e cabe a nós indentificar e avaliar a melhor conduta a ser seguida em prol da comunidade técnica-científica.

Autores: Wilson Roberto Focaccio Rodrigues; Emerson Lima; Francisco Cotrim; Luis Carlos Pieca.

131

EVOLUÇÃO DA PREVALÊNCIA DOS MARCADORES SOROLÓGICOS NO HOSPITAL MUNICIPAL DE CUBATÃO - SÃO PAULO

Delci Gomes, Célia Maria F. Pinto
Banco de Sangue do Hospital Municipal de Cubatão - S.P.

OBJETIVOS:
Verificar a evolução da prevalência dos marcadores sorológicos em doadores de sangue no Hospital Municipal de Cubatão entre julho de 1994 a fevereiro de 1997.

MATERIAL E MÉTODOS:
Foram analisadas 2.911 amostras de sangue de doadores, utilizando como critério de positividade amostras repetidamente reagentes. Foram utilizados testes Enzima-Imunoensaio para as doenças virais e dois testes de fundamento diferente para Sífilis e Chagas como preconiza a Portaria 1376/93 - MS. Foram realizadas também a dosagem bioquímica da TGP (ALT).

TABELA DE TESTES POSITIVOS

ANO	1994	1995	1996	1997	TOTAL
DOAÇÕES	450	1037	1110	314	2911
HBc	153 34,00%	292 28,15%	267 24,05%	82 26,11%	794 27,27%
SÍFILIS	3 0,66%	12 1,15%	21 1,89%	6 1,91%	42 1,44%
CHAGAS	2 0,44%	3 0,28%	8 0,72%	ZERO	13 0,44%
HBsAg	3 0,66%	12 1,15%	10 0,90%	2 0,63%	27 0,92%
HTLV1	1 0,22%	3 0,28%	2 0,18%	ZERO	6 0,20%
HCV	3 0,66%	16 0,72%	8 0,72%	2 0,63%	29 0,99%
TGP	1 0,22%	13 1,25%	9 0,81%	ZERO	23 0,79%
HIV	2 0,44%	2 0,19%	ZERO	ZERO	4 0,13%

Observamos que a principal causa de descarte de bolsas de sangue é o alto índice de Anti-HBc positivo que embora tenha tido uma queda na sua prevalência continua bastante alto comparado com outros municípios. Outro dado considerado é a diminuição da prevalência de Anti-HIV decorrente de uma triagem rigorosa e também o fato do município apresentar local da realização do teste gratuitamente.

132

AVALIAÇÃO DE UM TESTE RÁPIDO PARA HIV1+2 NO HOSPITAL MUNICIPAL DE CUBATÃO - SÃO PAULO

Delci Gomes, Célia Maria F. Pinto, Maria Gorete V.V. Berti
Laboratório de Sorologia do Banco de Sangue do Hospital Municipal de Cubatão - S.P.

OBJETIVO:
Avaliação de um teste rápido em tiras SERO STRIP HIV1+2 como teste de triagem usado em comperação com o teste Abbott HIV1+2 EIA PLUS DE TERCEIRA GERAÇÃO para de-tecção de anticorpos para o Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1 e tipo 2.
MATERIAL E MÉTODOS:
Foram examinadas 1064 amostras de soros de pacientes do Serviço de DST e de pacientes internados no Hospital Municipal de Cubatão entre março de 1996 a fevereiro de 1997. Essas amostras foram submetidas simultaneamente ao teste rápido SERO STRIP HIV1+2 e ao teste ELISA ABBOTT. As amostras repetidamente reagentes a um desses testes foram sub-metidas ao teste WESTERN BLOT para HIV da Genelabs Diagnostics.

	HIV ELISA	SERO STRIP HIV	WESTERN BLOT
POSITIVO	126	118	118
NEGATIVO	938	946	4
INDETERMINADO	0	0	4

Entre as 1064 amostras examinadas 126 (11,84%) foram repetidamente reativas no teste Elisa Abbott e 118 (11,09%) repetidamente reativas no teste rápido Sero Strip HIV. Essas 126 amostras foram submetidas ao teste confirmatório Western Blot e 118 delas (93,6%) resultaram POSITIVAS, 4 (3,4%) resultaram INDETERMINADAS e 4 (3,4%) resultaram NEGATIVAS. Concluímos que um teste rápido não deverá ser usado como triagem isoladamente como por exemplo em exames de doadores de órgãos para transplantes e sim concomitantemente com outro teste ELISA de triagem onde se obtém uma maior sensibilidade.

133

VIGILÂNCIA SENTINELA HIV EM PARTURIENTES NO HOSPITAL MUNICIPAL DE CUBATÃO - SÃO PAULO

Delci Gomes, Célia Maria F. Pinto
Laboratório de Sorologia do Banco de Sangue do Hospital Municipal de Cubatão

OBJETIVO:
Analisar a tendência da prevalência de Anticorpos Anti-HIV1+2 em parturientes na maternidade do Hospital Municipal de Cubatão utilizando a vigilância sentinela, que é a testagem anônima não vinculada através de sobras de amostras de soro do programa de sífilis congênita.
MATERIAL E MÉTODOS:
Foram analisadas 403 amostras de soros de parturientes que fazem parte do programa de sífilis congênita no período de 20/12/96 a 15/03/97. Essas amostras foram colhidas para a realização do teste de VDRL e após congeladas e armazenadas em temperatura de -18º C. Para a realização dos testes HIV essas amostras foram descongeladas e retirados os seus rótulos de identificação, recebendo então os números de 01 a 403, sequencial e sem qualquer outro dado que permitisse a identificação da paciente.
Essas amostras de soros foram submetidas ao teste ANTI-HIV1+2 EIA PLUS de 3ª geração da Abbott e aquelas consideradas reativas foram repetidas e submetidas ao teste rápido em tira ANTI-HIV1+2 SERO STRIP e ao teste confirmatório pelo WESTERN BLOT.
RESULTADOS:
Das 403 amostras testadas, 11 foram confirmadamente POSITIVAS, indicando uma tendência de prevalência de 2,72%, fato importante no sentido de implantar no município um programa de HIV para gestantes Soro Positivas com drogas anti-virais para evitar a transmissão no recém-nascido.

134

Avaliação de testes realizados para o diagnóstico laboratorial da Mononucleose Infecciosa

Moura, M.E.G.; Justa M.T.R.; Okayama, N.S.W.; Granato, C.F.H. e Lesser, P. G.

O diagnóstico laboratorial da Mononucleose Infecciosa (MI) baseia-se principalmente na demonstração de anticorpos heterófilos (Paul Bunnel mod. Davidsohn e Hoff-Bauer) e de anticorpos específicos dirigidos contra o vírus Epstein-Barr (Imunofluorescência indireta ou ELISA).
Foram analisadas 731 amostras, 254 de pacientes menores de15 anos e 477 com mais de 15 anos. O objetivo do nosso trabalho foi comparar diferentes perfis de resultados das técnicas de IFI anti VCA IgG e IgM, Paul Bunnel mod. por Davidsohn, Hoff Bauer e verificar a validade das mesmas no diagnóstico laboratorial da MI. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.
Tabela 1. Resultados comparativo das técnicas utilizadas para diagnóstico sorológico da MI em 731 amostras de soro.

				Pacientes < 15 anos		Pacientes > 15 anos	
VCA IgG	VCA IgM	Hoff Bauer	PB-Davidsohn	Nº Amostras	%	Nº Amostras	%
0	0	0	0	92	36,22	16	3,35
0	+	0	0	02	0,80	0	0
+	+	0	0	39	15,35	10	2,10
+	+	+	+	15	5,90	21	4,40
+	+	+	0	0	0	01	0,21
+	0	+	0	0	0	01	0,21
+	0	0	0	106	41,73	428	9,73
			Total	254	100	477	100

Conclusão: Se somente a reação de Paul Bunnel fosse realizada, 41 (16,1%) pacientes menores de15 anos e 10 (3,9%) com mais de 15 anos, apresentariam um resultado falso-negativo, pois a pesquisa de IgM foi positiva. Todos os pacientes com reação de Paul Bunnel positiva, também apresentaram reação de IgM positiva para MI e, como a reação de Hoff-Bauer não aumentou a sensibilidade do perfil (1 caso - falso positivo para MI), concluímos que para o diagnóstico de MI bastaria somente a reação de IFI para VCA IgM.

135

CARACTERIZAÇÃO IMUNOQUÍMICA DE CADEIA PESADA DO TIPO GAMA EM SEIS CASOS DE DOENÇA IMUNOPROLIFERATIVA DO INTESTINO DELGADO

Vieira, L.M[1] ; Ferrari, M.L.[2]; Bambirra, E.A.[2]; Cunha, A.S.[2] - Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia da UFMG (1) ; Serviço de Gastroenterologia, Nutrição, Cirurgia Geral e Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital das Clínicas da UFMG (2).

Por Doença Imunoproliferativa do Intestino Delgado (DIPID), engloba-se um grupo de patologias que possuem anormalidades clínicas, patológicas e imunológicas comuns, como : A Doença de Cadeia Pesada do tipo Alfa, o Linfoma do Mediterrâneo e o Infiltrado Difuso de Células Plasmáticas (OMS- 1976).

Clinicamente, a DIPID caracteriza-se por uma síndrome de mabsorção, perda de peso, dor abdominal, baqueteamento digital e ocasionalmente, linfadenopatia periférica. Tais achados clínicos são decorrentes primàriamente de uma extensa infiltração da mucosa, principalmente das porções proximais do intestino delgado e linfonodos mesentéricos por células linfoplasmocitárias, Estas células, vàriavelmente são responsáveis pela síntese de proteínas anômalas, principalmente cadeias pesadas de imunoglobulinas. Quando presentes, essas tem sido descritas na literatura, na sua totalidade, como sendo constituídas de cadeia pesada do tipo alfa. Apenas um caso associado à presença de cadeia pesada do tipo gama, encontra-se descrito na literatura (Bender e cols.-1978).

Neste trabalho, fica caracterizada a presença de cadeia pesada do tipo gama, livre no soro, de 6 pacientes com diagnóstico clínico-patológico de doença imunoproliferativa do intestino delgado.

136

PADRÃO DAS PROTEINAS VIRAIS PARA CONFIRMACÃO DE HTLV-I E HTLV-II PELO METODO DE WESTERN-BLOT.

OBianchini, C.Jardim, M.Menna-Barreto.
Laboratorio Bianchini e Jardim;Centro Municipal de DST/AIDS;Divisão de Neurologia do HSL-PUCRS. VIRION-HTLV:Grupo de Estudos e Trabalhos em Retrovirologia,Porto Alegre,RS,Brasil.

Em 1980 e 1982, Gallo e colaboradores descreveram o isolamento do virus HTLV-I e HTLV-II respectivamente, os quais 4% dos soros positivos podem vir a desenvolver uma mielopatia(paraparesia espastica) ou leucemia(de celulas T do adulto) após periodo de latência de anos ou decadas respectivamente.Conforme estabelecido pelo Centro de controle e prevencão de doencas(CDC) de Atlanta-USA, para consideracão de soropositividade para HTLV-I/II um dos metodos indicados é o Western Blot(WB), devendo apresentar no minimo uma proteina viral gag(p24 ou p19) e uma proteina viral env(gp46).Os kits comerciais preconizam uma gag(p24 ou p19) e uma env(gp46 ou gp21 ou gd 21).Zaaijer(1994) recomenda proteina viral de epitopo para HTLV-I(rgp46-I) ou para HTLV-II(rgp46-II) sendo o aparecimento de qualquer outra proteina viral padrão indeterminado.Renu Lal(1996) acrescenta padrão HTLV-I/II(p24,gd21) e 2 tipos de indeterminados, que deve ser repetido em 6 meses(p19&/ou gd21) e o que deverá ser considerado negativo(p24&/ou p19).Em Porto Alegre padronizamos da seguinte maneira:HTLV-I=presenca de bandas gd21+rgp46-I+p24&/ou p19;HTLV-II=presenca de bandas gd 21+rgp46-II+p24;HTLV-I/II=presenca de bandas gd21+p24&/ou p19;NEGATIVO=ausencia de bandas;INDETERMINADO TIPO I=presenca de banda env isolada ou + qualquer outra(s) banda(s) exceto padrão HTLV-I/II;INDETERMINADO TIPO II=presenca de pelo menos uma banda(exceto de env).Esta padronizacão é baseada em uso de WB com proteina recombinante e epitopos MTA-1 e K55.Para o padrão HTLV-I/II submeter a reacão em cadeia da polimerase(PCR) para a tipagem.Indeterminado tipo I deverá ser repetido o WB em 4-6 meses sendo provável soroconversão.Indeterminado tipo II também repetir WB em 4-6 meses sendo provável negativo com bandas inespecificas.Faz-se necessário padronizacão da interpretacão do WB para que se possa confrontar dados com relativa fidelidade quanto aos resultados.

Laboratorio Bianchini e Jardim:Rua Antonio Francisco da Rocha,100 cep90050-010 Porto Alegre,RS.

137

COMPARACÃO DE DIFERENTES ENSAIOS COMERCIAIS NA DETECCAO DE ANTICORPOS HTLV-I E HTLV-II EM TESTES DE TRIAGEM.

O Bianchini, C.Jardim, A . L. Bender, L.E.Steinstrasser, M. Menna-Barreto.

Laboratorio Bianchini e Jardim, Divisão de Neurologia e Imunologia do Hospital São Lucas PUCRS, Centro Municipal de DST/AIDS,VIRION-HTLV:Grupo de Estudos e Trabalhos em Retrovirologia.

Devido a transmissão do virus HTLV-I e HTLV-II,testes de triagem em bancos de sangue passaram a ser obrigatorios,no Japão(1986),USA(1988),Franca(1991) e no Brasil em 1993.Os testes de triagem requerem alta sensibilidade, para que se possa prevenir o falso-negativo.Desta maneira testamos 06 kits comerciais frente a painel de amostras positivas(n=170) para HTLV-I,HTLV-II e HTLV-I/II provenientes de doadores positivos, sendo alguns assintomaticos , outros com mielopatia associada ao HTLV-I e também membros de familias infectadas. Todos os doadores foram padrão positivo pelo Western-blot(HTLV Blot 2.4 Genelabs,Singapore).Foram 123 com HTLV-I, 21 com HTLV-II, 20 HTLV-I/II e 06 HTLV-I + HTLV-II co-infectados .Excluimos os doadores co-infectados com HIV. O criterio usado para o Western-blot foi: a)HTLV-I(p24,GD-21,MTA-1);b)HTLV-II(p24,GD21,K55);c)HTLV/II(GD21,p24e/oup19).Usamos 03 ensaios com anticorpos para HTLV-I(Fujirebio,Organon e Ortho) e 03 ensaios com anticorpos para HTLV-I/II(Biochem,Embrabio e Murex).Nos testes de ELISA os positivos tiveram absorbancia maior que o cut-off e no teste por aglutinacão de particulas usamos 02 diluicões(1:16 e 1:256) para minorar efeito pro-zona.A sensibilidade deste painel foi:a) Embrabio(Hemobio HTLV/II)= 74,12%;b)Biochem Detect HTLV/II= 92,35%;c)Organon(Vironostika HTLV-I)=94,12%;d)Fujirebio(Serodia HTLV-I)=98,24%;e)Ortho(HTLV-I enriquecido com rgp21)=99,41%;f)Murex(HTLV-I+HTLV-II)=99,41%.Dos ensaios analisados, nota-se a falencia na deteccão de anticorpos para o HTLV-II, determinando necessidade de incremento na sensibilidade dos testes de triagem usado.

Laboratório Bianchini e Jardim:Rua Antonio Francisco da Rocha,100.cep.90050-010.Porto Alegre,RS.

138

ESTUDO COMPARATIVO DA FREQUÊNCIA DE MARCADORES SOROLÓGICOS EM DOADORES DE REPETIÇÃO E PRIMÁRIOS NO HEMONORTE.-RN

Sandra Rezende de Andrade [(1)], Manoel Josué Batista Neto [(2)], Geraldo Barroso Cavalcanti Júnior [(1)], Telma Cassandra Barros Pereira [(2)], Isabel Cristina Viana Costa [(2)].

(1) Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas-UFRN; (2) HEMONORTE.

Esse estudo teve como objetivo avaliar o perfil sorologico dos doadores de repetição, tendo como parâmetro os resultados obtidos dos doadores de 1ª vez. Foram analisados 13.195 amostras de doadores de sangue, no periodo de 01/01/96 à 31/10/96. Destes doadores, 1.123 (8,51%) foram rejeitados em decorrência da soropositividade para um ou mais marcador sorológico, sendo 584 (4,43%) doadores de repetição e 539 (4,08%) doadores de 1ª vez, cujos resultados da análise comparativa encontram-se na tabela abaixo.

MARCADORES	DOADORES: 1ª VEZ	DOADORES: REPETIÇÃO
VDRL	107 (0,81%)	86 (0,65%)
Chagas (IFI)	20 (0,15%)	11 (0,08%)
Chagas (Elisa)	18 (0,14%)	15 (0,11%)
HBsAg	29 (0,22%)	25 (0,19%)
A-HBc	283 (2,14%)	211 (1,60%)
A-HCV	58 (0,44%)	70 (0,53%)
A-HTLV I / II	24 (0,18%)	30 (0,23%)
A-HIV (lisado viral)	24 (0,18%)	42 (0,32%)
A-HIV (recombinante)	10 (0,07%)	21 (0,16%)
TGP	36 (0,27%)	120 (0,91%)
Total de Rejeição	609 (4,60%)	631 (4,78%)

Os resultados obtidos com os doadores de repetição referentes aos marcadores para sífilis, doença de Chagas e hepatite B (HBsAg + A-HBc) apresentaram índices de rejeição menores que os doadores de 1ª vez, conforme a literatura tem relatado. Já a rejeição motivada pela reatividade aos demais marcadores, apresentaram uma maior incidência nos doadores de repetição, divergindo do preconizado pela literatura. Esses achados sugerem que o índice de soroconversão para estas doenças podem estar bastante elevados em nosso meio. O fato de serem doadores de repetição não significa que os mesmos apresentem um risco de rejeição menor que os doadores primários, os quais como podemos analisar, apresentaram índices de rejeição semelhantes aos doadores de repetição.

139

HEPATITE VIRAL A: FREQÜÊNCIA DE POSITIVIDADE PARA ANTICORPOS DAS CLASSES IgG E IgM SEGUNDO FAIXA ETÁRIA E TRIMESTRE SAZONAL (São Paulo, SP, 1996)

Márcia F. FUKUYA [1], Adelaide J. VAZ[1,2], Regina N. TUNDISI[1], Patricia SOARES-RODRIGUES[1], Adriana P. LAGO[1], Andréia P. FERREIRA[1].

[1]Laboratório Bio-Ciência Lavoisier. Av Angélica 1832. 01228-200. São Paulo, SP.

[2]Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP.

O vírus da hepatite A (HAV), de transmissão fecal-oral, é um RNA vírus hepatotrópico. De 10 - 50 dias após exposição ao agente infeccioso se detectam anticorpos séricos específicos anti-HAV. Em 6-9 meses desaparecem os anticorpos classe IgM, enquanto que IgG pode persistir por muitos anos. Para diagnóstico da fase aguda o melhor marcador é IgM e o isolamento do vírus. De 60-80% da população adulta possui IgG indicando infecção passada, mesmo sem sintomas.

Foram analisados os resultados dos testes imunoenzimáticos ELISA (Roche Diagnóstica) para anticorpos anti-HAV das classes IgG (HAV-G) e IgM (HAV-M) obtidos no período de dezembro de 1995 a novembro de 1996 no Laboratório Bio-Ciência Lavoisier. Os 1177 pacientes estavam assim distribuídos: 1042 (88,5%) adultos (≥ 15 anos), sendo 515 (49,4%) do sexo masculino e 527 (50,6%) feminino, e 135 crianças (< 15 anos), 73 (54,1%) deles do sexo masculino e 62 (45,9%) do sexo feminino.

Foram obtidos os seguintes índices de positividade para HAV-G: 76,2% para adultos (77,5% entre os homens e 75,0% entre as mulheres) e 48,9% para as crianças (56,2%entre os meninos e 40,3% entre as meninas). Não foi observada diferença significativa entre os sexos. Os adultos apresentaram maior freqüência de positividade que as crianças ($p<0,05$). O contrário foi observado para anticorpos IgM: 4,6% de positividade para adultos (5,6% no sexo masculino e 3,6% no feminino) e 29,6% entre as crianças (35,1% dos meninos e 22,6% das meninas). Quando comparamos os índices positividade do teste HAV-M de acordo com a época do ano, observamos ligeiro predomínio dos casos nos meses chuvosos (9,3%) em relação ao restante do ano (5,8%).

Os resultados obtidos sugerem que a infecção por HAV continua prevalente em nosso meio, indicando que as condições sanitárias, em especial nos meses chuvosos, permanecem adequadas para a transmissão de mais essa virose. Considerando que os pacientes analisados estavam sob investigação da etiologia de hepatite, e a freqüência de positividade para infecção recente (7,5% no total estudado), conclue-se que o vírus da hepatite A tem importância epidemiológica para inclusão no diagnóstico diferencial das hepatites.

Palavras-Chave: Hepatite Viral, Anticorpos IgG e IgM anti-HAV.

140

TESTE DE HEMAGLUTINAÇÃO PARA O DIAGNÓSTICO DA NEUROCISTICERCOSE HUMANA: DESENVOLVIMENTO DE REAGENTE ESTÁVEL UTILIZANDO ANTÍGENO HETERÓLOGO

Andréia P. FERREIRA[1,2], Adelaide J. VAZ[1,2], Paulo M. NAKAMURA[3], José A. LIVRAMENTO[4]
[1]Laboratório Bio-Ciência Lavoisier. Av Angélica 1832. 01228-200. São Paulo, SP. [2]Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP. [3] Instituto Adolfo Lutz. [4]Faculdade de Medicina, USP.

Foi padronizado o teste de hemaglutinação (HA) empregando hemácias de ganso formolizadas, taninizadas e sensibilizadas com extrato antigênico de líquido vesicular de *C. longicollis* (HA-Cl) e extrato salino total de *C. cellulosae* (HA-Cc). Foram ensaiados 61 LCR de dois grupos: 41 de pacientes com neurocisticercose e 20 de grupo controle, respectivamente, reativos e não-reativos no teste ELISA empregando *C. cellulosae*. Nos LCR do grupo controle não foi observada reatividade e 34 (82,9%) e 35 (85,4%) LCR de doentes foram reativos, respectivamente, nos testes HA-Cl e HA-Cc. O estudo da estabilidade dos reagentes pronto para uso mostrou vantagens para o armazenamento a 4°C, em glicerol a 50%, por até 6 meses. Os resultados obtidos confirmam que o reagente com *Cysticercus longicollis* e estabilizado com glicerol pode ser empregado como alternativa no diagnóstico imunológico da NC.

Palavras-Chave: Neurocisticercose, Teste de Hemaglutinação, Líquido Cefalorraquiano.

141

Incidência do Vírus Influenza A e B na população de Maceió -AL, Brasil.

[1]Cruz, M.E.M., [2]Zaidan, A.M.E., [3]Rodrigues, M.M.L., [4]Sá, J.P.O., [4]Silva, N.M., [4]Nascimento, Z.H.
[1]Departamento de Química / UFAL
[2]Departamento de Patologia / UFAL
[3]Laboratório de Imunologia e Virologia / H U / UFAL
[4]Bolsista CNPq / PIBIC / UFAL / BIO-UFAL

Vírus respiratórios são responsáveis por uma grande percentagem das doenças na população humana. Um estudo soro-epidemiológico foi feito para determinar a prevalência de anticorpos para as cepas dos subtipos A e B: *A/Taiwan/1/86* (H_1N_1) e *B/Panamá/45/20* num total de 110 amostras, *A/Shangdong/9/93 9* (H_1N_2) e *A/Shanghai/11/87* (H_3N_2) 200 amostras. Os soros foram obtidos no ano de 1996/1997, de pessoas de diferentes faixas etárias e de ambos os sexos, nos meses de abril/maio e dezembro/janeiro. A técnica utilizada para pesquisar anticorpos específicos foi a de inibição da hemaglutinação (Hl). A prevalência de anticorpos para *A/Taiwan/1/86* (H_1N_1), *A/Shangdong/9/93 9* (H_3N_2), *A/Shanghai/11/87* (H_3N_2) foi 94%, 92% e 88% respectivamente e o *B/Panamá/45/20* teve uma prevalência de 52%. A presença de marcadores sorológicos do vírus Influenza A e B em nossa população foi evidenciada pela primeira vez e mostrou ser em índices elevados, indicando uma ampla disseminação desses subtipos.

Fontes financiadoras: **PIBIC / UFAL**
FUSAL / PROJETO NORDESTE.
Agradecimento: **INSTITUTO EVANDRO CHAGAS**

142

ANÁLISE DO TESTE DE ELISA ANTI-HIV-1 EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL

Ana Luzia Matos Ramos; Ivo Castelo Branco Coelho - Centro de Hemoterapia e Hematologia do Ceará - HEMOCE

As reações falso-positivas em testes de ELISA (Enzima ma Linked Immuno Sorbent Assay) podem acontecer.

O presente trabalho demonstra a existência de reação cruzada no teste de ELISA anti-HIV. Em 33 pacientes de 0-15 anos com diagnóstico de calazar, foram observados 5 casos positivos para o teste de ELISA anti-HIV na primeira reação e em 4(12,12%) houve a permanência da positividade na segunda reação sorológica. Estes pacientes positivos apresentam Western Blot anti-HIV negativos. Devido o estigma da infecção pelo HIV, fica imperativo, em zonas endêmicas de Leishmaniose Visceral Americana, nos pacientes que tenham apresentado ELISA, anti-HIV positivo, a realização de outro teste comprobatório do HIV (Western Blot).

143

ESPECIFICIDADE DE PRODUTOS E DESEMPENHO DE EQUIPAMENTOS DE MARCA ROCHE E ABBOTT PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI HTLV I E II POR ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA). Oliveira, LC.; Diogo, CL.; Garrini, RHC.; Gioielli, MGB.; Rosin, CA. Seção de Laboratório do Instituto da Criança, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

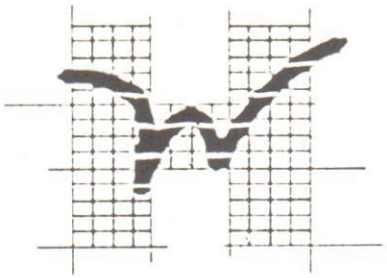
Os retrovírus HTLV-I e II estão relacionados a neoplasias malignas de linfócitos T e apresentam alta prevalência em portadores do HIV. O ELISA constitui o método de escolha para a detecção de anticorpos antiHTLV-I e II em Bancos de Sangue ou quando necessita-se com urgência do resultado (doadores de órgãos para transplantes). O Western-Blot e a Reação em Cadeia da Polimerase possuem sensibilidade e especificidade superiores ao ELISA, porém o elevado custo e a maior complexidade técnica não permitem que sejam utilizados como teste de triagem. O objetivo do presente estudo foi o de avaliar a especificidade de dois kits ELISA e a rapidez de execução dos mesmos utilizando analisadores automatizados (ROCHE-COBAS-CORE) ou semi-automatizados (ABBOTT-QUANTUM). Foram analisados 280 soros (72 provenientes de portadores do HIV e 208 de crianças apresentando outras patologias pediátricas). Apenas uma amostra dentre as 72 do grupo de risco foi positiva pelo ELISA (ambas as marcas). Este resultado foi confirmado pelo Western-Blot. Dentre as 208 amostras restantes, houve discordância em três casos (Western-Blot negativo em dois e indeterminado no terceiro). Os resultados nos permitem concluir sobre a excelente especificidade dos dois kits (ROCHE 99,3% e ABBOTT 100%), e comprovam a praticidade da automação (tempo de execução do teste ROCHE foi de 60 minutos e ABBOTT de 120 minutos). A implantação desta metodologia em Laboratórios Clínicos como o do Instituto da Criança, onde existe grande demanda e são realizados transplantes de órgãos, pode ser feita com segurança pois ela oferece resultados rápidos, com qualidade analítica.

144

Marcação de hemácias com ^{99m}tecnécio para investigação em processos inflamatórios

[1]MOTA, L.G.; [2]COELHO, M.M.; [1]CARDOSO, V.N. [1]Laboratório de Radioisótopos & [2]Laboratório de Farmacologia, Faculdade de Farmácia, UFMG, Belo Horizonte, MG.

Uma alteração importante durante a inflamação é a dilatação inicial de pequenas arteríolas, resultando em um aumento do fluxo sanguíneo local, que é seguido por uma estase do sangue e aumento da permeabilidade local. O ^{99m}tecnécio é um isótopo radioativo muito utilizado em Medicina Nuclear para fins de diagnóstico de doenças de diversas etiologias. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar um método empregando hemácias marcadas com ^{99m}tecnécio na investigação de alterações vasculares observadas durante a resposta inflamatória. Para tanto, camundongos Swiss foram decaptados e um volume de aproximadamente 2,0 mL de sangue foi coletado e centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos, o precipitado foi lavado com salina para a preparação das hemácias. Em seguida, 2,0 mL de hemácias foram incubados com uma solução de cloreto estanoso (6,5µM) por 60 minutos a 37°C. Após este tempo, foram adicionados a esta preparação 100 µCi de $Na^{99m}TcO_4$ e foi feita uma incubação por mais 10minutos a 37°C. A seguir, os tubos foram centrifugados e alíquotas do sobrenadante e do precipitado foram retiradas para a determinação da radioatividade. Após este preparo, administrou-se por via intravenosa 0,1mL de ^{99m}Tc-hemácias nos camundongos de ambos os grupos. Transcorridos 10 minutos da injeção, a radioatividade basal presente na pata esquerda dos animais foi determinada. Em seguida, foram injetados 20µl de carragenina (2%), por via subcutânea, na superfície plantar da pata esquerda dos camundongos para indução do processo inflamatório, sendo que nos animais controles foram injetados 20 µl de salina. Após 60, 120 e 180 minutos, repetiu-se a determinação da radioatividade. A distribuição das hemácias marcadas na pata esquerda dos camundongos controles e experimentais não apresentou diferença estatisticamente significativa nos diversos tempos investigados. Os resultados indicam que no modelo de processo inflamatório induzido por carragenina não houve um aumento significativo do fluxo sanguíneo local.



Headwork

Ind.Com.em Informática Ltda.

Ind.Com.em informática Ltda
C.G.C. 61.908.091/52 - I.E. 112.583.381.112
Rua França,76-Vila Mariana São Paulo-SP - Cep:04016-000
Tel:(011) 574-6022

Complab Sistema de Gerenciamento Laboratorial

Novos Recursos

Código de Barras
O Sistema CompLab está totalmente preparado para imprimir etiquetas em código de barras, automatizando a recepção, bancada, etc.

Terminal de Consulta 24 horas
Com o CompLab, você poderá equipar seu laboratório com terminais, onde o cliente, com um simples toque do dedo, no monitor, poderá consultar, on-line, horários e instruções para coleta de exames.

Interface para conexão dos equipamentos de automação laboratorial
É possível conectar o CompLab a vários equipamentos de automação laboratorial, permitindo assim maior velocidade, segurança na entrega dos seus resultados e diminuição de custos.

Assinatura Digitalizada
Imprime o exame com a assinatura do médico responsável.

Impressão Laser, frente e verso, com envelopamento automático

Exclusivo

Acesso à Internet

Acesso ao Banco de Dados do Laboratório poderá ser através da Rede Internet pelo médico, outros laboratórios ou pelo próprio paciente.

Impressão de Laudos via Servidor de Fax
O laudo liberado é enviado para o consultório, clínica ou hospital via Fax de maneira automática, de dia ou de noite.

Sistema Inteligente de Controle de Qualidade de Resultados
Aplicando métodos sofisticados e complexos de estatística , o computador auxilia o laboratorista no controle dos resultados elaborado, permitindo detectar erros técnicos.

Postos de Coleta On-Line (Informatizados)
Permite atender o paciente na recepção do posto e imprimir o laudo com assinatura digitalizada também diretamente no posto.

O&M
A HeadWork é a única empresa que pesquisa e desenvolve métodos para a qualidade total.
O sistema permite redução dramática de custos.

Laboratórios de Grande Porte

Único sistema com arquitetura Client/Server

E Mais

Gráficos Estatísticos

Controle de Resultados Errados

Recepção Informatizada

Faturamento em disquete

O melhor custo/benefício do mercado

Labor Import ⌑

Apresenta
Sua Linha de Produtos

➲ *One-Step*
Testes rápidos e seguros para hCG / HIV 1-2 / Rubeola / Mono / Clamidia
Marca: Heiga U.S.A.

➲ Tiras para Uroanálise URS9
9 áreas com densidade, altamente confiáveis : Apresentação: *Vial* com 100 unidades, com os parâmetros Nitrito / Urobilogênio / Proteínas / Ph / Sangue / Densidade (SG) / Corpos Cetônicos / Bilirubina / Glicose
Marca: Heiga U.S.A

➲ Câmaras de Neubauer
Características: Espelhada, dupla, altíssima qualidade
Melhor preço do mercado !
Marca: Hausser Scientific U.S.A

➲ Pipetas Variáveis - Ponteiras
Características: de 5 à 1.000mL, precisas e práticas, com descartador de ponteiras.
Marca: Heiga U.S.A

➲ Refratômetros para Medição de Densidade Urinária
Características: 1.000 à 1.040, precisão de 0,20% - Imbatível
Marca: Heiga U.S.A

➲ Centrífugas para Laboratório
De 06 à 24 tubos (inclusive microhematórito), garantia de 02 anos, toda confeccionada em aço, com timer, baixíssimo nível de vibração e ruído, tampa transparente, rotor angular.
Marca: The Drucker Company U.S.A

Não deixe de nos consultar em suas próximas compras
Temos uma forma de pagamento adequada à sua empresa

Consulte-nos sobre possibilidade de revenda

⌑ ***Distribuidor exclusivo das marcas Heiga U.S.A e The Drucker Company U.S.A para o Brasil e Mercosul***

Rua Santa Terezinha, 192 - Vila Yara, Osasco - SP - CEP: 06026-040
Televendas: (011) 5565-4523 Fax: (011) 703-6030

XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE ANÁLISES CLÍNICAS®

I Encontro Norte-Latinoamericano de Bioquímica Clínica
Patrocínio e realização: Sociedade Brasileira de Análises Clíinicas®
Fortaleza, 25 a 29 de Maio de 1997
Centro de Convenções Edson Queiroz - CE

Patrono

Prof. Dr. Gunther Hoxter

Presidente de Honra

Dr. Carlos Albuquerque
Ministro de Estado da Saúde

Homenagens Especiais

Dr. Tasso Ribeiro Jereissatti
Governador do Estado do Ceará

Dr. Juraci Magalhães
Prefeito Municipal de Fortaleza

Dr. Humberto Marques Tibúrcio
Presidente da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

Homenagens

Dr. Lúcio Alcântara
Senador da República

Dr. Arnaldo Zubioli
Presidente do Conselho Federal de Farmácia

Dr. Anastácio Souza Queiroz
Secretário de Saúde do Estado do Ceará

Drª. Anya Ribeiro Carvalho
Secretária de Turismo do Estado do Ceará

Dr. José Antônio Perez Silveira
Presidente da Regional da SBAC no Estado do Ceará

Dr. Guaracy Rodrigues
Superintendente da Fortur

Comissão Organizadora

Presidente: Dr. José Antônio Perez Silveira

Coordenação Geral

Coordenação Geral: Dr. Humberto Marques Tibúrcio
Tesoureiro: Dr. Estevão José Colnago

Comissão Executiva

Drª. Maria Guilhermina Jaborandy Rodrigues
Dr. Joaquim Gomes Damasceno
Drª. Maria Graziela Evangelista

Comissão Científica

Dr. Manoel Alves Maia Filho
Dr. Darci Araújo Correia
Drª. Elza Gadelha Lima
Drª. Benedita Anete Ibiapina Alves
Drª. Maria Goretti C. Albuquerque

Comissão de Cursos

Drª. Zirlane Castelo Branco Coelho
Dr. Francisco Eisntein Nascimento
Drª. Maria de Fátima Figueiredo
Drª. Vânia Feijó Cordeiro

Comissão Social

Drª. Maria de Jesus Lima do Nascimento
Drª. Vanesca Fontenele Ribeiro
Drª. Maria Dayse Sobral de Assis

Apoio Local

Srª. Daniela Brandão Perez Silveira
Srª. Maria Celnegens Novais Correia
Sr. Francisco Walter Maia

Comissão Julgadora dos Prêmios

Prof. Dr. João Ciribelli Guimarães (RJ) - Presidente
Prof. Dr. Mateus Mandu de Souza (RJ)
Prof. Dr. Raimundo Diogo Machado (RJ)
Dr. José Ronaldo Cardoso (MG)
Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ)
Prof. Dr. Carlos Adalberto de Camargo Sannazzaro (SP)
Dr. Carlos Henrique Ubatuba Lienert (RS)
Dr. Vanderlei Eustáquio Machado (MG)

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - SBAC®

Diretoria Executiva

Presidente:	Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG)
Vice-Presidente:	Dr. Willy Carlos Jung (SC)
Secretário Geral:	Drª. Virgínia Frota de Matos (RJ)
Secretário:	Drª. Elvira Maria Loureiro Colnago (RJ)
Tesoureiro:	Dr. Estevão José Colnago (RJ)
Tesoureiro-Adjunto:	Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ)

Conselho Fiscal

Prof. Dr. João Ciribelli Guimarães (RJ)
Prof. Dr. Antônio José Marques D'Almeida (RS)
Dr. José Ronaldo Cardoso (MG)

Comissão de Normas e Habilitação

Dr. Estevão José Colnago (RJ)
Prof. Dr. Luiz Fernando Barcelos (RS)
Prof. Dr. Mateus Mandu de Souza (RJ)
Prof. Dr .Carlos Adalberto de Camargo Sannazzaro (SP)
Dr. Willy Carlos Jung (SC)
Prof. Dr. Durval Mazzei Nogueira (SP)
Prof. Dr. Paulo Fausto Cauduro (RS)
Prof. Dr. Henrique Lerner (PR)
Prof. Dr. Raimundo Diogo Machado (RJ)
Prof. Dr. Darci Araújo Correira (CE)
Prof. Dr. João Ciribelli Guimarães (RJ)
Prof. Dr. Ediláudio Luna de Carvalho (PB)
Dr. Carlos Henrique Ubatuba Lienert (RS)
Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG)
Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ)

Conselho Deliberativo

Membros Natos

Dr. Ney Haushahn (RJ)
Dr. José Abol Corrêa (RJ)
Dr. Evanyr Seabra Nogueira (RJ)
Prof. Dr. Ediláudio Luna de Carvalho (PB)
Prof. Dr. Antonio José Marques D'Almeida (RS)
Prof. Dr. João Ciribelli Guimarães (RJ)
Prof. Dr. Mateus Mandu de Souza (RJ)

Regionais e Presidentes

Bahia:	Dr. Grimaldo dos Santos
Ceará:	Dr. José Antônio Perez Silveira
Distrito Federal:	Dr. Manoel Aureliano Junior
Goiás:	Dr. Ulisses Tuma
Minas Gerais:	Dr. Vanderley Eustáquio Machado
Paraná:	Prof. Dr. Yoshio Hashimoto
Pernambuco:	Dr. Tarcísio de Oliveira Moura
Rio Grande do Norte:	Profª Drª Geruza Maria Caldas Maia
Rio Grande do Sul:	Profª Drª Carmen Pilla

Delegacias e Delegados

Alagoas:	Dr. Jurandi David da Silva
Amazonas:	Dr. Sebastião Ferreira Marinho
Espírito Santo:	Dr. Henrique Tommasi Neto
Maranhão:	Drª. Rita Maria do Amparo Bacelar Palhano
Mato Grosso:	Dr. Jerolino Lopes Aquino
Mato Grosso do Sul:	Dr. Heldir Ferrari Paniago
Santa Catarina:	Dr. Willy Carlos Jung
São Paulo:	Dr. Carlos Adalberto de Camargo Sannazzaro
Sergipe:	Dra. Maria da Conceição de Lucena Oliveira

Reuniões Profissionais

1 - Reunião do Conselho Deliberativo
Data: 24/05/97
Hora: 14:00 horas
Local: Hotel Imperial Othon Palace

2 - Concurso para Obtenção do Título de Especialista em Análises Clínicas
Data: 24 e 25/05/97
Hora: 08:00 às 12:00 horas e 08:00 às 18:00 horas
Local: Hotel Imperial Othon Palace

3 - Comissão de Julgamento dos Prêmios
Data:09/05/97
Local: SBAC

4 - Reunião da SBAC com os Expositores
Data: 28/05/97
Hora:14:00 horas
Local: Sala 06

5 - Reunião dos Proprietários de Laboratórios com ALACs e Sindicatos
Data: 28/05/97
Hora: 15:00 horas
Local: Sala 06

6 - Assembléia Geral dos Sócios da SBAC
Data: 29/05/97
Hora: 16:00 horas
Local: Auditório 1

PROGRAMA SOCIAL

DIA 25 DE MAIO DE 1997

Inscrições e entrega de credenciais
Hora: 09:00 às 17:00h
Local: Centro de Convenções Edson Queiroz

Sessão solene de instalação do Congresso
Hora: 21:00 horas
Local: Náutico Atlético Cearense

Coquetel de boas-vindas aos congressistas e convidados
Hora: 21:30 horas
Local: Náutico Atlético Cearense

DIA 27 DE MAIO DE 1997

City-tour para os acompanhantes
Saída: - Retorno: Hotel Imperial Othon Palace
Local: Saída / Retorno - Hotel Imperial Othon Palace

DIA 28 DE MAIO DE 1997

Jantar de Confraternização
Hora: 21:00 horas
Local: Náutico Atlético Cearense

PROGRAMA CIENTÍFICO

DIA 26 DE MAIO DE 1997 - SEGUNDA-FEIRA

Das 08:00 às 09:50 horas
Cursos Ímpares - 1ª AULA

01 - Controle de qualidade e a BPLC

Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG)
Dr. Celso Rubens Loques Mendonça (RJ)
Dr. José Abol Corrêa (RJ)
Coordenador: Drª. Selma Maria Soares Castro (CE)
Local: Auditório 2

Resumo da atividade
1.1 - Controle interno
1.2 - Métodos estatísticos
1.3 - Controle de equipamentos
1.4 - Controle externo

03 - Diagnóstico das infecções virais

Prof. Dr. Sérgio Lisbôa Machado (RJ)
Coordenadora: Drª. Heliane Baltazar Ribeiro (CE)
Local: **Sala 01**

Resumo da atividade
- Introdução aos vírus
- Obtenção de amostras para diagnóstico viral
- Métodos de identificação e isolamento de vírus
- Testes imunológicos de rotina no laboratório clínico
- Diagnóstico laboratorial das infecções mais comuns
  - Rotavírus e outros vírus causadores de diarréia
  - Herpes, Varicela-Zoster, Citomegalovírus, Epstein-Baar
  - Influenza, Parainfluenza, Vírus Respiratório, Sincicrh, Adenovírus e Rhinovírus
  - Caxumba
  - Sarampo
  - Rubéola
  - Hepatites A, B, C e D
  - HIV

05 - Diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias

Prof. Dr. Paulo Cesar Naoum (SP)
Coordenadora: Drª. Zirlane Castelo Branco (CE)
Local: **Sala 02**

Resumo da atividade
5.1 - Química e síntese genética das hemoglobinas.
5.2 - Biologia molecular das hemoglobinas.
5.3 - Hemoglobinas normais, variantes e talassemias.
5.4 - Doença Falciforme: origem, química, fisio-patologia, biologia molecular, análises laboratoriais, interpretação das análises.
5.5 - Talassemias: origem, síntese genética e biologia molecular, análises laboratoriais específicas para talassemias alfa e beta.
5.6 - Outras hemoglobinopatias: Hb C, Hb Instáveis, Metahemoglobinas.
5.7 - Distribuição geográfica.
5.8 - Perspectivas futuras.

07- Aspectos básicos laboratoriais em reprodução humana masculina

Profª. Drª. Maria Angelina Medeiros (CE)
Prof. Dr. Francisco das Chagas Medeiros (CE)
Coordenadora: Drª. Izabel Letícia C.Ramalho (CE)
Local: Sala 07

Resumo da atividade
7.1 - Avaliação clínica (geral) do casal infértil.
7.2 - Anátomo-fisiologia do sistema reprodutor masculino.
7.3 - Interação muco-sêmen anormal.
7.4 - Desordens da espermatogênese.
7.5 - Métodos e interpretação da análise seminal I.
7.6 - Métodos e interpretação da análise seminal II.
7.7 - Testes de função espermática.
7.8 - Preparação do sêmen para inseminação intra-uterina homóloga.

09- Líquidos corporais: análise e interpretação

Prof. Dr. Eurípedes Alvarenga Barbosa (MG)
Coordenadora: Drª. Vânia Feijó Cordeiro (CE)
Local: **Sala 03**

Resumo da atividade
9.1 - Aspectos laboratoriais, padronização de análise e a interpretação clínica dos líquidos:
  9.1.1 - Cefalorraquidiano;
  9.1.2 - Pleural;
  9.1.3 - Ascítico;
  9.1.4 - Pericárdio;
  9.1.5 - Amniótico;
  9.1.6 - Sinovial.

11 - O dia-a-dia nas culturas de fezes e de urina

Prof. Dr. Ernesto Hofer (RJ)
Coordenadora: Drª. Maria Goretti C. Albuquerque (CE)
Local: **Sala 04**

Resumo da atividade
11.1 - Colheita e remessa dos espécimens clínicos ao laboratório.
11.2 - Exames preliminares ou presuntivos indicativos de infecção dos tratos urinário e entérico.
11.3 - Diagnóstico bacteriológico: meios de cultura para isolamento.
11.4 - Identificação bioquímica: esquemas simplificados e rápidos para as bactérias mais prevalentes.
11.5 - Caracterização antigênica de enteropatógenos.
11.6 - Interpretação e discussão dos resultados.

13 - Avaliação laboratorial das tireoideopatias

Prof. Dr. Mário Giovanni Pradal (SP)
Coordenadora: Drª. Maria Nazaré de M. Rocha (CE)
Local: **Sala 08**

Resumo da atividade
13.1 - Fisiologia e fisiopatologia tireoideanos.
13.2 - Variações pré-analíticas para os hormônios tireoideanos.
13.3 - Os ensaios do TSH.
13.4 - Auto anti-corpos anti-tireoideanos.

15 - Avaliação da função renal e de patologias correlacionadas

Prof. Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ)
Coordenador: Dr. Benvindo Aécio P. Holanda (CE)
Local: Sala 05

17- Citopatologia avançada: curso virtual

Profa. Drª. Rita Maria do Amparo B. Palhano (MA)
Coordenadora: Drª. Maria Suely Alves Moreira (CE)
Local: **Sala 06**

Resumo da atividade

No turno matutino do dia 25/26:

- Os casos estarão à disposição dos participantes que terão 2 (duas) horas para descrever os laudos. As opções diagnósticas serão entregues ao operador de computador para elaborar os gráficos de cada caso com as respectivas opções diagnósticas. Os referidos gráficos serão apresentados em forma de transparências para discussão.

No turno vespertino do dia 25/26:

- Será instalada uma mesa redonda para apresentação dos casos. Os expositores terão 10 (dez) minutos para apresentação de seus casos. Em seguida, haverá 10 (dez) minutos para discussão do caso apresentado.

Das 08:00 às 10:00 horas
Mesa-Redonda: Automação em hematologia: avaliação do usuário
Coordenador: Dr. Yoshio Hashimoto (PR)
Expositores: Dr. Paulo Henrique da Silva (PR)
Dr. Henrique Tommasi Neto(ES)
Dr. Carlos Hamilton de S. Leão (PE)
Secretário: Dr.Elias José Cury Junior (GO)
Local: **Auditório 1**

Resumo da atividade
- Critérios para a escolha da automação.
- Procedimentos operacionais na fase de adaptação a automação.
- Protocolo para a liberação de exames.
- O laudo do hemograma automatizado.

Das 9:00 às 10:00 horas
Conferência: Toxicologia de urgência: aspectos analíticos atuais
Conferencista: Dr. Ovandir Alves Silva (SP)
Presidente: Dr. Ney Haushahn (RJ)
Secretário: Drª. Maria Goretti do Nascimento Santos (RN)
Local: **Auditório 3**

Das 10:00 às 11:00 horas
Conferência: Necessidades laboratoriais para neonatologia
Conferencista: Drª. Maria Francielze Holanda Lavor (CE)
Presidente: Dr. Mateus Mandu de Souza (RJ)
Secretário: Dr. Ulan Bastos (ES)
Local: **Auditório 3**

Resumo da atividade

- A evolução do laboratório clínico observada nos últimos anos veio proporcionar dados capazes de auxiliar na elucidação diagnóstica quando oportunamente indicados e corretamente interpretados. A neonatologia é um segmento da Pediatria com peculiaridades importantes em relação aos exames laboratoriais, tanto em relação às técnicas de coleta, realização e sua interpretação. O surgimento da realização de exames por micrométodos tornou possível um acompanhamento laboratorial mais preciso e menos iatrogênico dos neonatos graves, sobretudo dos RN de baixo peso, quando são necessárias dosagens séricas sucessivas. Alguns aspectos devem ser assinalados, para que se possa minimizar as eventuais complicações que possam surgir: a coleta deverá ser efetuada pelo neonatologista ou enfermeira experiente, salientando-se os cuidados de antissepsia para evitar infecções, padronização dos procedimentos de coleta e registrar no prontuário do RN o volume de sangue retirado e veia utilizada.

Das 10:00 às 12:00 horas
Mesa-Redonda: Administração e o controle de qualidade do banco de leite materno
Coordenador: Drª. Virgínia Frota Matos (RJ)
Expositores: Dr. João Aprígio Guerra de Almeida (RJ)
Dr. Franz Reis Novak (RJ)
Drª. Maria Marly Lopes V. Peixoto (CE)
Secretária: Drª. Telma M. Teixeira Menezes (CE)
Local: **Auditório 1**

Das 11:00 às 12:00 horas
Conferência: Resistência da bactéria a antimicrobianos
Conferencista: Dr. José Luciano B. Moreira (CE)
Presidente: Dr. Heldir Ferrari Paniago (MS)
Secretário: Dr. Estevão José Colnago (RJ)
Local: **Auditório 2**

Conferência: Enfoque crítico dos exames imuno-hematológicos
Conferencista: Drª. Shirley Lopes de Castilhos (RJ)
Presidente: Drª. Maria da Conceição L. de Oliveira (SE)
Secretário: Drª. Maria Suely Soares Leonart (PR)
Local: **Auditório 3**

Das 12:00 às 13:00 horas
Workshop: Express Plus, uma nova alternativa em bioquímica clínica
Palestrante: Srª. Heloisa Tartuci
Local: **Sala 04**

Workshop: Maior sensibilidade e especifidade nos kits de HIV de 3ª geração
Palestrante: Ph. Yvan P. Côté
Local: **Sala 05**

Das 14:00 às 15:00 horas
Conferência: Prêmio SBAC
Presidente: Dr. João Ciribelli Guimarães (RJ)
Secretário: Dr. Mateus Mandu de Souza (RJ)
Local: **Auditório 3**

DIA 26 DE MAIO DE 1997 - SEGUNDA-FEIRA

Das 08:00 às 09:50 horas
Cursos ímpares - 2ª aula

Das 14:00 às 16:00 horas
Mesa-Redonda: Interpretação do leucograma em adultos e crianças

Coordenador: Drª. Heloisa Helena Ribas V. de Mattos(PR)
Expositores: Dr. Paulo Henrique da Silva (PR)
Drª. Maria Francielse Holanda Lavor (CE)
Secretário: Drª. Maria de Jesus Lima do Nascimento (CE)
Local: **Auditório 1**

Resumo da atividade
- Distinção entre valores da referência de adultos e crianças.
- Distinção e importância do valor relativo e absoluto.
- Cinética das granulócitos.
- Leucograma no estado infeccioso.
- Principais alterações da série branca.

- A interpretação dos exames laboratoriais assume função importante na definição do diagnóstico e sua correlação com os aspectos clínicos. A análise do leucograma na faixa etária pediátrica exige conhecimentos especiais, sobretudo no que concerne ao PERÍODO NEONATAL. As alterações no número dos neutrófilos nem sempre significam um processo infeccioso; por isso, deve-se conhecer fatores que alteram a dinâmica dos neutrófilos. Condições como asfixia perinatal, hipoglicemia, uso de ocitócito, febre materna, doença hemolítica do RN, síndrome aspiração meconial e convulsões são capazes de AUMENTAR o número total de neutrófilos. Enquanto hipertensão materna e hemorragia periventricular podem DIMINUIR os neutrófilos. Existem trabalhos correlacionando os valores leucocitários médios com a idade gestacional (termo e pré-termo) e a idade pós-natal (sangue do cordão, primeiro dia de vida, quinze e trinta dias de vida). O diagnóstico de infecção neonatal requer o uso de escores hematológicos na interpretação dos dados fornecidos pelo leucograma.

Das 15:00 às 16:00 horas
Conferência: Análise crítica dos exames dos distúrbios do crescimento
Conferencista: Drª. Adriana Costa e Forti (CE)
Presidente: Drª. Geruza Maria C. Maia (RN)
Secretário: Dr. Josemar Fonseca Silva (BA)
Local: **Auditório 3**

Das 16:00 às 17:00 horas
Conferência: Radicais livres: problemas e soluções
Conferencista: Drª. Ana Campa (SP)
Presidente: Dr. Carlos Adalberto de C. Sannazzaro (SP)
Secretário: Drª. Zirlane Castelo Branco Coelho (CE)
Local: **Auditório 3**

Das 16:00 às 17:00 horas
Conferência: Importância dos procedimentos pré-analíticos para a qualidade dos resultados
Conferencista: Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG)
Presidente: Dr. Luiz Fernando Barcelos (RS)
Secretário: Dr. Luiz Italo Niero (SP)
Local: **Auditório 2**

Das 16:00 às 18:00 horas
Mesa-Redonda: Análise crítica do usuário para automação em imunologia
Coordenador: Dr. Willy Carlos Jung (SC)
Expositores: Dr. Carlos Henrique Ubatuba Lienert (SC)
Dr. Cesar Camilo Pacheco Thaddeu (RS)
Secretário: Drª. Vanesca Fontenele Ribeiro (CE)
Local: **Auditório 1**

Das 17:00 às 18:00 horas
Workshop: Sigilo e segurança na transmissão de informação via internet
Palestrante: Sr. André Magno Pimentel
Local: **Sala 04**

Workshop - Estudo comparativo entre métodos usados no exame parasitológico de fezes e o total test
Palestrante: Dr. Luiz Cândido de Souza Dias
Local: Sala 05

DIA 27 DE MAIO DE 1997 - TERÇA-FEIRA

Das 08:00 às 09:50 horas
Cursos Ímpares - 3ª AULA

Das 08:00 às 10:00 horas

Mesa-Redonda: A eficiência dos métodos parasitológicos

Coordenador: Drª. Marluce Vitaliano da Silva (RN)
Expositores: Dr. Vanderlei Eustáquio Machado (MG)
Dr. Antonio Pedro Soares (MG)
Secretário: Dr. Paulo Nertand Cartaxo Esmeraldino (CE)
Local: **Auditório 3**

Das 09:00 às 10:00 horas
Conferência: Imunologia das tireoideopatias*
Conferencista: Dr. Werner Khunel (ALE)
Presidente: Dr. Álvaro Largura (PR)
Secretário: Dr. Darci Araújo Correia (CE)
Local: **Auditório 1**

Das 08:00 às 09:00 horas
Conferência: Novas enzimas como rotina
Conferencista: Dr. Geraldo Picheth (PR)
Presidente: Dr. Marcelo Quintão Mendes (MG)
Secretário: Drª. Joana D'Arc Ximenes Alcanfor (GO)
Local: **Auditório 1**

DIA 27 DE MAIO DE 1997 - TERÇA-FEIRA

Das 10:00 às 12:00 horas
Conferência: Padronização para as dosagens de lípides e lipoproteínas*
Conferencista: Drª. Sântica M. Marcovina (USA)
Presidente: Dr. Durval Mazzei Nogueira (SP)
Secretário: Dr. Carlos Mothé Bacelar da Silva (RJ)
Local: **Auditório 1**

Mesa-Redonda: Dificuldades e vantagens na automação da bioquímica clínica
Coordenador: Dr. José Ronaldo Cardoso (MG)
Expositores: Dr. Geraldo Picheth (PR)
Drª. Áurea Yukie Higa (RJ)
Dr. Bruno Tommasi (ES)
Secretário: Dr. Francisco Einstein do Nascimento (CE)
Local: **Auditório 1**

Resumo da atividade
- Comparativo operacional entre duas metodologias.
- Experiência no serviço público e privado.
- Convencional e química seca.

Das 11:00 às 12:00 horas
Conferência: Necessidades laboratoriais para geriatria
Conferencista: Drª. Leda Teixeira Coelho (SP)
Presidente: Dr. Darci Araújo Correia (CE)
Secretário: Dr. Manoel Alves Maia Filho (CE)
Local: **Auditório 2**

Resumo da atividade
- Alterações do metabolismo, em geral, proteínas e hidratos de carbono.
- Alterações do metabolismo mineral e sistemas endócrino, renal, pulmonar e ósseo na geriatria.
- Principais exames laboratoriais para complementar o diagnóstico clínico.

Das 12:00 às 13:00 horas
Workshop: Diagnóstico de doenças infecciosas por PCR
Palestrante: Sr. Mario Hiroyuki Hirata
Local: **Sala 04**

Workshop: Por que automatizar a microbiologia?
Palestrante: Sr. Jean-Luc Vaillaud
Local: **Sala 05**

(*) Com tradução simultânea

Das 14:00 às 15:00 horas
Conferência: Marcadores Tumorais*
Conferencista: Dr. Arie Van Dalen (HOL)
Presidente: Dr. Antonio Jaguaribe Neto (RJ)
Secretário: Drª. Andrelina Noronha de Souza (CE)
Local: **Auditório 1**

Das 14:00 às 15:50 horas
Cursos Ímpares - 4ª AULA
Das 14:00 às 16:00 horas
Mesa-Redonda: O laboratório clínico na infecção hospitalar
Coordenador: Drª. Heloisa Helena Ribas V. de Mattos (PR)
Expositores: Dr. Érico Antonio Gomes de Arruda (CE)
Drª. Tereza Bandeira (CE)
Secretário: Drª. Maria Dayse S.Assis (CE)
Local: **Auditório 1**

Das 15:00 às 17:00 horas
Conferência: Variabilidade biológica nos lípides e lipoproteínas*
Conferencista: Drª. Sântica M. Marcovina (USA)
Presidente: Dr. João Ciribelli Guimarães (RJ)
Secretário: Dr. Carlos Mothe Bacelar da Silva (RJ)
Local: **Auditório 1**

Das 16:00 às 17:00 horas
Conferência: Prêmio PNCQ
Presidente: Dr. José Ronaldo Cardoso (MG)
Secretário: Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ)
Local: **Auditório 3**

Das 16:00 às 18:00 horas
Mesa-Redonda: Dislipidemias: aspectos clínicos e laboratoriais
Coordenador: Dr. Antonio José Marques D'Almeida (RS)
Expositores: Dr. Ricardo Pereira e Silva (CE)
Drª. Adrelina Noronha C. de Souza (CE)
Secretário: Dr. Celio Lima (CE)
Local: **Auditório 3**

Das 17:00 às 18:00 horas
Workshop: Uma nova era em interligação com equipamentos laboratoriais
Palestrante: Sr. José Alberto Rosa Andrade
Local: **Sala 04**

Workshop: Campos de aplicação da microscopia da nova linha "Eclipse" da Nikon
Palestrante: Prof. José Trezza Netto
Local: **Sala 05**

DIA 28 DE MAIO DE 1997 - QUARTA-FEIRA

Das 08:00 às 09:50 horas
Cursos Pares - 1ª AULA

02 - Citologia oncótica básica

Prof. Dr. Carlos Eduardo de Queiroz Lima (PE)
Coordenadora: Drª. Terezinha Gomes Teixeira (CE)
Local: **Sala 01**

04 - Abordagem laboratorial das DST

Prof. Dr. Ivo Castelo Branco Coelho (CE)
Coordenadora: Ana Lúcia A. Fontenelle
Local: **Sala 04**

06 - Correlação, erros e discrepâncias dos testes laboratoriais

Prof. Dr. Carlos Henrique Ubatuba Lienert (RS)
Prof. Dr. Cesar Camilo Pacheco Thaddeu (RS)
Coordenadora: Drª. Denise Girão Limaverde Lima (CE)
Local: **Sala 02**

08 - Avaliação dos exames laboratoriais da hemostasia e trombose

Profª. Drª. Rosângela de Albuquerque Ribeiro R. Holanda (CE)
Coordenador: Dr. Francisco Fábio Castelo Branco (CE)
Local: **Sala 03**

10 - A bioquímica clínica no laboratório de rotina

Prof. Dr. Geraldo Picheth (PR)
Coordenador: Dr. Francisco Einstein do Nascimento (CE)
Local: **Auditório 2**

12 - Diagnóstico micológico de rotina

Profª. Drª. Natália de Almeida Vilela (GO)
Coordenadora: Drª. Maria Lourdes M. Sobrinho (CE)
Local: **Sala 07**

14 - Cito-hematologia: diagnóstico interativo

Profª. Drª. Alana Jocelina Montenegro de Castro (CE)
Prof. Dr. José Quixadá Cavalcante Filho (CE)
Coordenadora: Drª. Maria de Fátima Figueiredo (CE)
Local: **Sala 05**

Resumo da atividade

14.1- Apresentação de casos clínicos sobre as principais alterações hematológicas.
14.2- Projeções dos slides correspondentes a estas patologias.
14.3- Discussão de cada caso em particular com a participação dos alunos.

16 - Rotinas laboratoriais para imunohematologia

Profª. Drª. Shirley Lopes de Castilhos (RJ)
Profª. Drª. Maria Margarida Nunes Pêcego (RJ)
Coordenador: Dr. Antonio Jorge A. de Lima (CE)
Local: **Sala 08**

Das 08:00 às 09:00 horas
Conferência: Marcadores bioquímicos e virais das hepatites

Expositor: Dr. Jorge de Souza Holanda (AL)
Presidente: Dr. Jurandir David da Silva (AL)
Secretário: Drª. Zoraide Mendonça Tavares (CE)
Local: **Auditório 1**

Das 09:00 às 10:00 horas
Conferência: Água: como obtê-la com qualidade analítica

Conferencista: Dr. José Abol Corrêa (RJ)
Presidente: Drª. Carmen Pilla (RS)
Secretário: Dr. José Itamar Pires da Silva (MA)
Local: **Auditório 3**

Das 10:00 às 11:00 horas
Conferência: Micoses superficiais e emergentes

Conferencista: Drª. Natália de Almeida Vilela (GO)
Presidente: Dr. Manoel Aureliano Junior (DF)
Secretário: Drª. Elza Gadelha Lima (CE)
Local: **Auditório 3**

Das 10:00 às 12:00 horas
Mesa-Redonda: O credenciamento do laboratório clínico e a BPLC

Coordenador: Dr. João Ciribelli Guimarães (RJ)
Expositores: Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG)
Dr. José Abol Corrêa (RJ)
Dr. João Ciribelli Guimarães (RJ)
Secretário: Dr.Jose Abol Corrêa (RJ)
Local: **Auditório 1**

Das 11:00 às 12:00 horas
Conferência: Biossegurança aplicada ao laboratório clínico

Conferencista: Dr. Manoel Alves Maia Filho (CE)
Presidente: Drª. Rita Maria do Amparo B. Palhano (MA)
Secretário: Dr. Jose Abol Corrêa (RJ)
Local: **Auditório 2**

Resumo da atividade

- O manuseio de material biológico, químico e radioativo em Laboratório Clínico, expõe todos os empregados a riscos que podem ser evitados através do emprego de boa técnica nos procedimentos laboratoriais combinado com o uso de equipamentos de proteção individual e obediência à legislação sanitária pertinente. A implantação de programas de treinamento em biossegurança para que toda a equipe de trabalho seja conscientizada sobre os problemas de segurança e informada sobre a identificação e o controle dos riscos existentes no laboratório.

Das 11:00 às 12:00 horas
Conferência: Avaliação laboratorial para as doenças reumáticas

Conferencista: Dr. Walber Pinto Vieira (CE)
Presidente: Dr. Tarcísio de O. Moura (PE)
Secretário: Drª. Maria de Jesus Lima do Nascimento (CE)
Local: **Auditório 3**

Resumo da atividade

17.1 - Exames laboratoriais para o diagnóstico nas dosagens reumáticas.
17.2 - Exames que refletem atividades das colagenopatias.
17.3 - Doenças reumáticas em geral, do ponto de vista biológico ou imunológico.

DIA 28 DE MAIO DE 1997 - QUARTA-FEIRA

Das 12:00 às 13:00 horas
Workshop: Laboline
Palestrante: Sr Sylvain Kernbaum
Local: **Sala 04**

Das 14:00 às 15:00 horas
Conferência: Prêmio Bayer
Presidente: Dr. Mateus Mandu de Souza (RJ)
Secretário: Dr. João Ciribelli Guimarães (RJ)
Local: **Auditório 3**

Das 14:00 às 15:50 horas
Cursos Pares - 2ª AULA

Das 14:00 às 16:00 horas
Mesa-Redonda: Microbiologia automatizada

Coordenador: Dr. Estevão José Colnago (RJ)
Expositores: Drª. Tereza Bandeira (CE)
Dr .Willy Carlos Jung (SC)
Dr .Marcus Vinícius da Silva Coimbra (RJ)
Secretário: Dr. Manoel Alves Maia Filho (CE)
Local: **Auditório 1**

Resumo da atividade

11.1 - Breve histórico
11.2 - Cultura primária - Semeadura (Autocloner)
11.3 - Hemocultura (Bacter)
11.4 - Urinocultura (Uroquick)
11.5 - Identificação bioquímica e antibiograma (Microscan/ Viter/Sensident)

Para cada aparelho apresentado será discutido brevemente sua metodologia e fundamento.

Das 15:00 às 16:00 horas
Conferência: Gasometria: aspectos clínicos e laboratoriais

Conferencista: Dr.José Ronaldo Cardoso (MG)
Presidente: Dr. Grimaldo dos Santos (BA)
Secretário: Drª. Érica Cristina Silva Lanna (MG)
Local: **Auditório 3**

Das16:00 às 17:00 horas
Conferência : Infecções emergentes e ressurgentes nos pacientes imuno-comprometidos

Conferencista: Dr. Francisco George Magalhães de Oliveira (CE)
Presidente: Dr. Ulisses Tuma (GO)
Secretário: Drª.Maria Guilhermina Jaborandy Rodrigues (CE)
Local: **Auditório 3**

Das 16:00 às 18:00 horas
Mesa-Redonda: HIV: Progressos no diagnóstico e necessidades de padronização

Coordenador: Dr. Paulo Roberto Pereira Callegari (MG)
Expositores: Dr. Oscar Jorge Berro (RJ)
Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG)
Secretário: Drª. Benedita Anete I. Alves (CE)
Local: **Auditório 1**

Das 17:00 às 18:00 horas
Workshop: Tuberculose como problema nacional; importância do diagnóstico clínico laboratorial

Palestrantes: Dr. Mario Hiroyuki Hirata
Dr. Fernando Augusto Fiuza de Melo
Drª. Clarice Queico Fujimura Leite
Local: **Sala 04**

DIA 29 DE MAIO DE 1997 - QUINTA-FEIRA

Das 08:00 às 09:50 horas
Cursos pares - 3ª AULA

Das 08:00 às 10:00 horas
Mesa-Redonda: A relação entre os laboratórios e as empresas compradoras de serviços

Coordenador: Dr.José Jesus Nogueira (BA)
Expositores: Dr. Mário Luiz Amadei (RJ)
Dr. Antonio Jaguaribe Neto (RJ)
Dr. Neri João Bottin (DF)
Secretário: Dr.Jairo Epaminondas Breder Rocha (RJ)
Local: **Auditório 1**

Das 09:00 às 10:00 horas
Conferência: Diagnóstico laboratorial das leucemias

Conferencista: Dr. Paulo Henrique da Silva (PR)
Presidente: Dr. Vanderlei Eustáquio Machado (MG)
Secretário: Drª.Lucia Cereta Nunes Erberich (PR)
Local: **Auditório 3**

Resumo da atividade
20.1 - Importância do hemograma no diagnóstico das leucemias.
20.2 - Relação entre o hemograma, a idade, o sexo e o tipo de leucemia.
20.3 - As reações citoquímicas.
20.4 - O mielograma.
20.5 - Importância da cito e imunogenética no diagnóstico das leucemias.

Das 10:00 às 11:00 horas
Conferência: Seqüenciamento automático do DNA

Conferencista: Dr. Martin Whittle (SP)
Presidente: Dr. Henrique Tommasi Neto (ES)
Secretário: Drª. Maria Dayse Sobral de Assis (CE)
Local: Auditório 3

Das 10:00 às 12:00 horas
Mesa-Redonda 14: Os problemas do dia-a-dia no laboratório clínico

Coordenador: Dr. José Abol Corrêa (RJ)
Expositores: Dr. José Abol Corrêa (RJ)
Dr. João Ciribelli Guimarães (RJ)
Dr. Carlos Henrique Ubatuba Lienert (RS)
Dr. Cesar Camilo Pacheco Thaddeu (RS)
Dr. Renato Di Dio (SP)
Secretário: Dr. João Ciribelli Guimarães (RJ)
Local: **Auditório 1**

Resumo da atividade
Apresentação das dúvidas do exercício diário do Laboratório Clínico aos Expositores.

Das 11:00 às 12:00 horas
Conferência: Citologia e fatores de prognóstico no câncer de mama

Conferencista: Drª. Tânia Maria Cavalcanti Maia (CE)
Presidente: Dr. Sebastião Ferreira Marinho (AM)
Secretário: Dr. Joaquim Gomes Damasceno (CE)
Local: **Auditório 3**

Resumo da atividade

A citologia bem como a mamografia e o exame clínico, formam o tripé do diagnóstico precoce de câncer de mama.

Na citologia identificamos alterações celulares, que sugerem o processo maligno. No entanto, é necessário o estudo histológico para melhor identificar estes tumores.

Com o avanço da genética e da imunohistoquímica foi possível a identificação de diversos fatores, que foram estabelecidos como prognóstico, tais como: grau histológico, tamanho do tumor e índice mitótico.

Outros fatores também são potencialmente úteis no prognóstico, como os marcadores tumorais (p53 e c-erB-2) e os de invasão vascular. Existem ainda outros fatores em estudo.

A citologia, a histologia e estes fatores de prognóstico nos permitem ter uma idéia da evolução biológica das pacientes portadoras de câncer de mama, ou seja, de sua sobrevida.

Das 14 às 14:50 horas
Cursos pares - 4a. AULA

Das 14:00 às 16:00 horas
Mesa-Redonda: Reunião anual do PNCQ

Coordenador: Dr. Celso Rubens Loques Mendonça (RJ)
Expositores: Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG)
Dr. José Abol Correa (RJ)
Dr. João Ciribelli Guimarães (RJ)
Secretário: Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG)
Local: **Auditório 1**

Resumo da atividade

Apresentação dos momentos atuais do PNCQ. Projetos a serem implementados. Dúvidas dos participantes. Sugestões dos participantes para aprimoramento do PNCQ.

Das 15:00 às 16:00 horas
Conferência 24: Metabolismo energético - Interpretação em análises clínicas

Conferencista: Dr. Marcus Raimundo Vale (CE)
Presidente: Dr. Jerolino Lopes de Aquino (MT)
Secretário: Drª. Maria Graziella Evangelista (CE)
Local: **Auditório 3**

EXPOSIÇÃO CIENTÍFICA

A Comissão Organizadora do Congresso agradece às Empresas que adquiriram stands para a Exposição Científica, pois isto permitiu que interesses comuns fossem alcançados, com a demonstração de equipamentos, reagentes e serviços, assim como, permitindo o contato direto do fornecedor com o consumidor.

- Abbott Laboratórios do Brasil Ltda
- Adlin Plásticos Ltda
- Akzo Nobel Ltda - Organon Teknika
- Analisa Ind. e Com. Ltda
- Análise Produtos e Serviços para Laboratórios Ltda
- Asta Médica Ltda
- Bayer S.A.
- Becton Dickinson Ind. Cirúrgica Ltda
- Behring Diagnóstica
- Bio Eng Indústria e Comércio Ltda
- Bio Ciência do Brasil Produtos Tecnológicos Ltda
- Biodina Inst. Científicos Ltda
- Biolab Merieux S.A.
- Bio Ciência Lavoisier Análises Clínicas S/C Ltda
- Biobrás Diagnósticos Ltda
- Biológica Comercial Ltda
- Bioplus Produtos para Laboratórios Ltda
- Biosystems Brasil
- Bio-Tek Indústria Farmacêutica Ltda
- Biovida Inovação Tecnológica Ltda
- CBDL - Câmara Brasileira de Diagnóstica Laboratorial
- Celm Cia Equipadora de Laboratórios Modernos
- Cemar Indústria e Comércio Ltda
- Centro de Triagem Neontal
- Ciba-Geigy Química S.A.
- Coulter Eletronics Ind. e Com. Ltda
- CPEI - Orgenics Ltda
- Cral - Com. de Art. para Laboratório Ltda
- CRIESP-Central de Radioimunoensaio de S. Paulo S/C Ltda
- D-MED Material Médico Hospitalar Ltda
- Dade International Inc.
- Deprom Comercial Ltda
- Deskarplas Indústria e Comércio Ltda
- Diag-Lux Prod. para Laboratórios Ltda
- Diamed Brasil Ltda
- Dica - Distr. Central Apar. Cient. Ltda
- Digene do Brasil Ltda
- DLE - Diagnósticos Laboratoriais Especializados Ltda
- Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda
- Dourada Distribuidora Ltda
- DPC-MEDLAB Prods. Médico-Hospitalares Ltda
- Dyna Medix Corp./Dynavem Biosistemas
- Drake Eletrônica e Comércio Ltda
- Editora Lovise Ltda
- Endo Center S/C Ltda
- Eskalab Com. e Repres. Ltda
- Golden Foz
- Hemagem Diagnósticos Comércio, Importação e Exportação Ltda
- Hemogram Ind. Com. Prods. Hosp. Ltda
- Hemovida Comércio de Produtos Médicos e Laboratoriais Ltda
- Ikro S.A.
- Immunoassay Prods. Hosp. Ltda
- Import. Ind. e Com. Ambriex S.A.
- Imuno Serum Biot. Ind. Com. Ltda
- In Vitro Diagnóstica Ltda
- Inst. de Patologia Clínica Hermes Pardini
- Interlab Distribuidora de Produtos Científicos
- Johnson & Johnson Prod. Prof. Ltda
- Kolplast Coml. Indl. Ltda
- Labex, Inc.
- Labinbraz Comercial Ltda (Wiener)
- Labnew Ind. e Com. Ltda
- Labor Import. Coml. Imp. Exp. Ltda
- Laboratório 2000 Comércio e Serviços Ltda
- Lab. de Análises e Pesquisas Clínicas Gastão Fleury S/C
- Laboratório Manoel Borba S/C Ltda
- Laborlab S.A. Prod. para Laboratórios
- Labplas Comercial Ltda
- Labtest Diagnóstica S/A
- Láctea Ap. Científicos e Eletrônicos Ltda
- Lid Laboratório de Invest. Diagn. e Reum.
- Marsoft Consultoria e Sistemas Ltda
- Mc Will Editores Incorporados Ltda
- Medlabor Imp. e Repres. Ltda
- Merck S.A. Indústrias Químicas
- Métodos Produtos Médicos Ltda
- Micronal S.A.
- PNCQ - Programa Nacional de Controle de Qualidade
- Prevlab Laborat. Clínico Ltda
- Probac do Brasil Prods. Bact. Ltda
- Proclin Ap. Art. Científicos Exp. Imp. Ltda
- Produtos Roche Quim. e Farm. S.A.
- Promicro Com. Repres. Prod. Microbiológicos Ltda
- Quibasa Química Básica Ltda
- Quimiclab Comércio Importação e Representação Ltda
- REM - Com. e Prot. Radiológica Ltda
- SAE - Serviços de Análises Especializadas Ltda
- Sanofi Winthrop Farmacêutica Ltda
- SBAC - Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
- Spectrum Diagnóstica Com. Imp. e Exp. de Prod. Ltda
- TCM Informática Ltda
- Trilab Diagnóstica Ltda
- Tudolab Distr. Com. de Materiais para Laboratório Ltda
- TV Med Video
- Uniscience do Brasil Ind. Com. Ltda
- Vallee S.A.
- Wama Produtos para Laboratórios Ltda
- SBAC - Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A *SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS* e a *Comissão Organizadora do* XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE ANÁLISES CLÍNICAS agradecem às Empresas abaixo relacionadas por contribuirem a mais, para que o Evento pudesse ser realizado com o sucesso e tradição dos anteriores:

BANCO HSBC - BAMERINDUS
BIOLAB Merieux S/A.
CBDL - Câmara Brasileira de Diagnóstica Laboratorial
DLE - Diagnósticos Laboratoriais Especializados Ltda
DPC-MEDLAB - Produtos Médicos Hospitalares Ltda
FORTUR - Fundação para o Desenvolvimento Turístico de Fortaleza
LABTEST Diagnóstica S/A.
MICRONAL S/A
PNCQ - Programa Nacional de Controle de Qualidade
PRODUTOS ROCHE - Química e Farmacêutica S/A.
SETUR - Secretaria de Turismo do Estado do Ceará

XXIV Congresso Brasileiro de Análises Clínicas®
I Encontro Norte-Latinoamericano de Bioquímica Clínica
Fortaleza, 25 a 29 de Maio de 1997
Centro de Convenções Edson Queiroz - CE

Hora h	Domingo 25/Maio	Segunda-feira 26/Maio	Terça-feira 27/Maio	Quarta-feira 28/Maio	Quinta-feira 29/Maio
7 às 9	—	Ônibus de ida	Ônibus de ida	Ônibus de ida	Ônibus de ida
8 às 17	Inscrição e entrega de material	Inscrição e entrega de material	Inscrição e entrega de material	Inscrição e entrega de material	Inscrição e entrega de material
8 às 9	—	—	Novas enzimas como rotina	Marcadores bioquímicos e virais das hepatites	—
8 às 10	—	Cursos ímpares	Cursos ímpares	Cursos pares	Cursos pares
8 às 10	—	Automação em hematologia: avaliação do usuário	A eficiência dos métodos parasitológicos	—	A relação entre os laboratórios e as empresas compradoras de serviços
9 às 10	Ônibus de ida	Toxicologia de urgência: aspectos analíticos atuais	Imunologia das tireoideopatias	Água: como obtê-la com qualidade analítica	Diagnóstico laboratorial das leucemias
9 às 12	—	Tema livre	Tema livre/City tour(2)	Tema livre	Tema livre
9 às 18	Concurso TEAC(1)	—	—	—	—
10 às 11	Ônibus de ida/volta	Necessidades laboratoriais para neonatologia	—	Micoses superficiais e emergentes	Seqüenciamento automático do DNA
10 às 12	—	Administração e o controle de qualidade do banco de leite materno	Padronização para as dosagens de lipides e lipoproteínas / Dificuldades e vantagens na automação da bioquímica clínica	O credenciamento do laboratório clínico e a BPLC	Os problemas do dia-a-dia no laboratório clínico
11 às 12	Ônibus de ida/volta	Resistência da bactéria a antimicrobianos/Enfoque crítico dos exames imuno-hematológicos	Necessidades laboratoriais para geriatria	Biossegurança aplicada ao laboratório clínico/Avaliação laboratorial para as doenças reumáticas	Citologia e fatores de prognóstico no câncer de mama
11 às 15	Ônibus de ida/volta	Prêmio SBAC	Marcadores Tumorais	Prêmio Bayer / Reunião com expositores	Prêmio RCR
14 às 16	—	Cursos ímpares	Cursos ímpares	Cursos ímpares	Cursos pares
14 às 16	—	Interpretação do leucograma em adultos e crianças	O laboratório clínico na infecção hospitalar	Microbiologia automatizada	Reunião anual do PNCQ
14 às 17	—	Tema livre	Tema livre	Tema livre	—
15 às 16	Ônibus de ida/volta	Análise crítica dos exames dos distúrbios do crescimento	—	Gasometria: aspectos clínicos e laboratoriais	Metabolismo energético - Interpretação em análises clínicas
15 às 17	—	—	Variabilidade biológica nos lípides e lipoproteínas	ALAB's COLABIOCLI	—
16 às 17	Ônibus de ida/volta	Radicais livres: problemas e soluções/Importância dos procedimentos pré-analíticos para a qualidade dos resultados	Prêmio PNCQ	Infecções emergentes e ressurgentes nos pacientes imuno-comprometidos	Assembléia geral de encerramento
16 às 18	—	Análise crítica do usuário para automação em imunologia	Dislipidemias: aspectos clínicos e laboratoriais	HIV: Progressos no diagnóstico e necessidades de padronização	—
17 às 18	Ônibus de volta	Ônibus de volta	Ônibus de volta	Ônibus de volta	Ônibus de volta
18 às 19	—	Ônibus de volta	Ônibus de volta	Ônibus de volta	Ônibus de volta
20 às 21	Ônibus ida: Abertura	—	—	Ônibus de ida: jantar	—
21 às 24	Abertura(3)	—	—	Jantar(3)	—
23 às 01	Ônibus de volta	—	—	Ônibus de volta	—

1. Prova teórica: Sábado 24 de Maio das 9 às 12h (vide página nº5).
2. Para acompanhante inscrito. Requer convite.
3. Convite pessoal e intransferível.

26 SEGUNDA-FEIRA ANOTAÇÕES

Hora	Atividade

27 TERÇA-FEIRA ANOTAÇÕES

ANOTAÇÕES — QUARTA-FEIRA 28

Hora	Atividade

ANOTAÇÕES — QUINTA-FEIRA 29

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas®
XXIV Congresso Brasileiro de Análises Clínicas®
I Encontro Norte-Latinoamericano de Bioquímica Clínica
Fortaleza, 25 a 29 de Maio de 1997
Centro de Convenções Edson Queiroz - CE