

CAPA

Normas de publicação

A **Revista BioAnálise (RB)**, aceita para publicação artigos que apresentem resultados de Investigação Básica e Aplicada na Área das Análises Clínicas e Saúde Pública (Ramo Laboratorial). Todos os artigos serão sujeitos a um processo de revisão antes da decisão de publicação, cabendo ao Director Científico a decisão final, com base nos pareceres do Conselho Científico, sendo dada prioridade de publicação a artigos de Sócios da Sociedade Portuguesa de BioAnalistas da Saúde (SPBS). Os trabalhos publicados passam a ser propriedade da RB, e não poderão ser reproduzidos no todo ou em parte sem a autorização da Direcção da Revista.

Responsabilidade de Autoria e Transferência de Direitos de Autor
A RB considera todos os autores responsáveis pelo conteúdo do artigo, por isso deve ser enviado conjuntamente o documento **Checklist para autores**, completamente preenchido.

Categories de Artigos

Editoriais – 1000 palavras no máximo; até 20 referências; resumo não estruturado até 100 palavras.

Artigos Originais – 5000 palavras no máximo; até 5 palavras-chave; resumo não estruturado até 250 palavras.

Artigos de Revisão – 5000 palavras no máximo; até 5 palavras-chave; resumo não estruturado até 250 palavras.

Notas de Investigação (Comunicações Breves) – 1000 palavras no máximo; até 20 referências; resumo não estruturado até 100 palavras; máximo 2 tabelas ou ilustrações.

Correspondência (Cartas ao Director/Editor) – referentes a material publicado recentemente na RB).

Resumos de comunicações/pósteres – trabalhos apresentados em reuniões científicas. A categoria do artigo pode eventualmente mudar durante o processo de revisão.

Apresentação do Texto

A primeira página deve conter o Título do Artigo, que deve dar uma indicação do tema em estudo, e não ser uma afirmação de conclusões. Os nomes e graus profissionais dos Autores, os respectivos Serviços e os Agradecimentos devem ser fornecidos em página separada para garantir a Revisão Anónima. O Título e Resumo têm de ser redigidos em Português e em Inglês, devendo ser propostas palavras-chave em ambas as línguas, para facilitar a Indexação em Bases de Dados Científicas. Os artigos devem ser redigidos a 2 espaços (parágrafo) com uma margem de 3cm em todos os lados, começando cada secção ou componente no início de uma página. As figuras e tabelas deverão ser apresentadas separadamente do texto, com a respectiva numeração e legenda, e em ficheiros separados na diskette. Os Artigos Originais deverão ser estruturados da seguinte forma: Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão. Deve ser nomeado um autor para correspondência, incluindo morada completa, telefone e email. Enviar diskette para PC com os documentos e um exemplar impresso.

Ilustrações e Figuras

Qualquer imagem composta por linhas e texto, como gráficos, tabelas e ilustrações, devem ser guardados em EPS (Encapsulated PostScript). Ficheiros de Bitmap devem ser guardados como TIFF 800 dpi (Tagged image format files).

Tabelas

Quando possível devem ser preparadas como texto, usando "tabs" para alinhar colunas. Evitar o uso de editores de tabelas. Abreviaturas podem ser usadas, mas devem ser explicadas em legenda. As unidades de medida devem ser claramente indicadas.

Considerações Éticas

Artigos de Investigação envolvendo humanos, devem incluir uma declaração na Secção Material e Métodos, em como foi obtido o Consentimento Informado, assim como a aprovação por uma Comissão de Ética, de acordo com a Declaração de Helsínquia.

Processo de Revisão e Informação aos Autores

O número de revisores por artigo será de dois. Após revisão, se forem propostas alterações, os autores terão quinze dias para entregar uma versão corrigida. Após Aceitação/Rejeição do Artigo os autores serão informados por email. Todos os autores com Artigos Aceites receberão um ficheiro PDF (prova) com a versão final do artigo para uso pessoal.

Referências Bibliográficas

Deverão ser enumeradas segundo a ordem de citação no texto (e não alfabeticamente), usando números árabes dentro de parêntesis. Todos os autores devem ser citados se forem em número igual ou inferior a seis. Se forem sete ou mais, devem ser enunciados os primeiros seis seguidos da expressão, *et al.*

Exemplos – segundo "Uniform Requirements"

Artigos de Revistas

1. Artigo padrão:

Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart trans-plantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996; 124:980-3.

2. Organização/Instituição como autor:

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 164:282-4.

3. Volume com suplemento:

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1:275-82.

4. Volume com parte:

Ozben T, Nacitarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995; 32 (Pt 3):303-6.

Livros e outras Monografias

1. Autor(es) individual:

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

2. Editor(es), compilador, como autor:

Norman IJ, Redfern SJ, eds. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

3. Capítulo de um livro:

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, eds. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management*. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. p. 465-78.

4. Livro de actos de conferência, congresso, encontro:

Kimura J, Shibasaki H, eds. Recent advances in clinical neurophysiology. *Proceedings of the 10th Int. Cong. of EMG and Clinical Neurophysiology*; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

Contactos da SPBS e da Redacção e Produção da Revista Bioanálise

Apartado 2009 • 3501-909 VISEU • Tel. 969235980 • E-mail: spbs@portugalmail.pt • Site: www.spbs.pt

bioanálise

PUBLICAÇÃO OFICIAL DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE BIOANALISTAS DA SAÚDE

Director Científico

Elísio Sousa Costa, Bragança

Conselho Científico

Abel António Ferreira, *Guarda*
Altina Ramos Lopes, *Porto*
Ana Paula Galante, *Coimbra*
Ana Sofia Gonçalves, *Coimbra*
António João Metello, *Coimbra*
Célia Maria Morais, *Coimbra*
Cristina Caldas Peres, *Lisboa*
Dalila Ferreira Patrício, *Coimbra*
Elsa Ribeiro Lopes, *Porto*
Fátima Barreto Simões, *Coimbra*
Isabel Soares Henriques, *Porto*
José Alípio Simões, *Coimbra*
Rogério Filipe Barreira, *Coimbra*
Maria de Fátima Monteiro, *Porto*
Maria Fortunato Alves, *Porto*
Sandra Teixeira Pereira, *Porto*
Sónia Graziela Rocha, *Porto*
Sónia Raquel Santos, *Porto*
Susana Almeida Santos, *Coimbra*
Vânia Viriato Oliveira, *Lisboa*

Director Geral

Teobaldo Correia Simões

Director Administrativo

Francisco Oliveira Freitas

Director Financeiro

Mónica Carvalho Alves

Marketing e Distribuição

Ana Cristina Pinto

Publicidade

Elisa Rocha Gouveia
Moisés Brito Vaz

Propriedade, Administração, Produção, Edição e Redacção

Sociedade Portuguesa
de BioAnalistas da Saúde

Design, Montagem e Impressão

Tip. Beira Alta, L.da - Viseu



ÓRGÃOS SOCIAIS

DIRECÇÃO

Presidente

Teobaldo Correia Simões

Vice-Presidente

Ana Maria Oliveira

Secretário

Francisco Oliveira Freitas

Tesoureiro

Mónica Carvalho Alves

Vogais

Ana Cristina Pinto
Elisa Rocha Gouveia
Maria Gabriela Rebelo
Susana Gomes Dias
Moisés de Brito Vaz

ASSEMBLEIA GERAL

Presidente

Célia Rodrigues Bettencourt

Vice-Presidente

Luís Miguel Silva

Secretário

Manuela Azevedo Silva

Suplentes

Alexandra Tiago Guerra
Lídia Martins Teixeira

CONSELHO FISCAL

Presidente

Margarida Ribeiro de Oliveira

Redactores

Ana Elena Taboada
Maria Alves dos Reis

EDITORIAL / EDITORIAL

- 5** *Elísio Costa*
Escola Superior de Saúde de Bragança, Director Científico da Revista Bioanálise

ARTIGOS ORIGINAIS / ORIGINAL ARTICLES

- 6** **Polimorfismo C-1T na Sequência de Kozak da Anexina V e o Risco para Enfarte Agudo do Miocárdio / C1-T Polymorphism in the Kozak Sequence of Annexin V and the Risk to Acute Myocardial Infarction**
Armando Caseiro¹, Patrícia Catalão¹, Catarina Pinto², Patrícia Martinho², Teresa Fidalgo², Gabriel Tamagnini²
¹Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra, ²Laboratório de Hematologia do Centro Hospitalar de Coimbra
- 12** **A Homocisteinémia no Acidente Vascular Cerebral / Homocysteinemia in Stroke**
Moisés Brito Vaz¹, Maria José Reis¹
¹Laboratório de Patologia Clínica do Hospital S. Teotónio S.A., Viseu
- 18** **A IgE Total e o Diagnóstico de Alergia na Criança / Total IgE and Allergy Diagnostic in Child**
Maria José Reis¹, Moisés Brito Vaz¹
¹Laboratório de Patologia Clínica do Hospital S. Teotónio S.A., Viseu
- 23** **Infecção do Tracto Urinário na Criança / Urinary Tract Infection in Child**
Matilde de Oliveira¹
¹Serviço de Patologia Clínica do Hospital Senhora da Oliveira, Guimarães
- 30** **Burnout Profissional – Uma Realidade no Laboratório? / Professional Burnout – A Laboratory Reality?**
Susana Ferreira¹
¹Serviço de Microbiologia do Hospital Geral de Sto António, Porto

Nos últimos anos, os Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública (TACSP) e de uma forma geral todos os profissionais relacionadas com as tecnologias da saúde têm vindo a evoluir de forma significativa, no que se refere ao nível dos seus conhecimentos técnico/científicos, isto particularmente a partir do momento em que estes profissionais passaram a dispor de formação de base ao nível do ensino superior politécnico. Esta evolução tem vindo, de forma progressiva, a ter implicações nas suas competências, permitindo-lhes aceder áreas técnicas e científicas que até à pouco tempo lhes estavam vedadas, por eventual falta de conhecimento. Esta alteração ao nível do ensino tem permitido que muitos profissionais tenham prosseguido os seus estudos e tenhamos actualmente muitos profissionais com habilitações académicas ao nível de mestrado e, alguns mesmo, ao nível de doutoramento. Neste contexto o aparecimento de uma revista técnico/científica que tenha como elementos motores TACSP era inevitável.

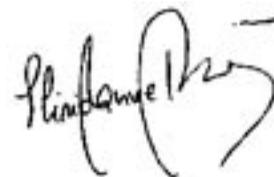
A Sociedade Portuguesa dos BioAnalistas da Saúde (SPBS), cumprindo o que tinha prometido desde a sua criação, fundou a revista Bioanálise. Esta revista, embora se dirigida sobretudo a TACSP, não está de forma nenhuma vedada a outros profissionais com algum tipo de ligação ao ramo laboratorial, nomeadamente: outros Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica (Anatomia Patológica, Farmácia, Dietética, Saúde Ambiental, etc.), Biólogos, Bioquímicos, Farmacêuticos, Médicos e outros profissionais relacionados com a área laboratorial.

Desde a saída do número 0 da revista, altura em que a criação da revista foi divulgada, recebemos inúmeros artigos para apreciação e possível publicação.

Não posso deixar passar esta oportunidade para realçar o elevado nível técnico/científico de todos estes trabalhos, fazendo prever para a revista um futuro promissor.

Neste primeiro número da revista Bioanálise são publicados cinco artigos, de áreas científicas distintas, nomeadamente: Genética, Trombose, Imunologia, Bacteriologia e Ciências Humanas. Em dois dos trabalhos aqui publicados, os autores procuram identificar factores de risco de doença tromboembólica, sendo de realçar que num deles, a homocisteinémia como um factor de risco para Acidente Vascular Cerebral e no outro, o polimorfismo C-1T na sequência de Kozak da Anexina V como não constituindo um factor de risco nem de protecção para o Enfarte Agudo do miocárdio. Em dois outros trabalhos foram estudados duas patologias importantes na idade pediátrica, a infecção do trato urinário e a reacções alérgicas. Finalmente, o último trabalho tenta identificar os principais factores que condicionam stress no contexto laboratorial de um hospital central.

Em meu nome pessoal e da SPBS, gostaria de deixar o desejo de podermos continuar a contar com a colaboração de todos os profissionais relacionados com a área laboratorial, na revista Bioanálise, para que esta possa ter um futuro de sucesso, como penso ser o desejo de todos.



Elísio Costa

(Director Científico)

Polimorfismo C-1T na sequência de Kozak da Anexina V e o risco para Enfarte Agudo do Miocárdio

*ARMANDO CASEIRO¹, PATRÍCIA CATALÃO¹, CATARINA PINTO², PATRÍCIA MARTINHO², TERESA FIDALGO², GABRIEL TAMAGNINI²

¹Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra, ²Laboratório de Hematologia do Centro Hospitalar de Coimbra

RESUMO

O Enfarte Agudo do Miocárdio (EAM) é uma das patologias mais comuns nos países industrializados e geralmente ocorre quando existe diminuição súbita no fluxo sanguíneo coronariano após oclusão trombótica de uma artéria coronária. A Anexina V (ANV) faz parte de uma família de proteínas com actividade anticoagulante vascular, e a capacidade de se ligar aos fosfolípidos carregados negativamente está estreitamente associada com a sua importância fisiológica no sistema hemostático. A potente actividade anticoagulante da ANV é decorrente do seu efeito inibitório na activação da protrombina, prevenindo a formação de trombos em condições normais de fluxo sanguíneo arterial ou venoso. Este estudo teve como objectivos, relacionar o polimorfismo C-1T na sequência de Kozak do gene da Anexina V com o risco de EAM e determinar a prevalência do polimorfismo na população Portuguesa. O estudo envolveu a análise de 100 doentes e 104 controlos com e sem EAM documentado por angiografia, respectivamente. O estudo foi efectuado com recurso a técnicas de biologia molecular: PCR e digestão com endonuclease de restrição *NC*oI. Neste estudo encontraram-se indivíduos normais (C/C), heterozigóticos (C/T) e homozigóticos para o polimorfismo (T/T). A frequência encontrada na

população Portuguesa foi de 0,885 para o alelo C e 0,115 para o alelo T. Após a análise estatística dos dados, pelo teste do Qui-quadrado, verificámos que não são estatisticamente significativos. Assim, pode-se concluir que o polimorfismo C-1T, por si só, não constitui factor de risco nem de protecção para o EAM.

Palavras-chave: Anexina V • **C-1T** • Enfarte Agudo do Miocárdio

Aceite para publicação: 23 de Novembro de 2004

ABSTRACT

The acute myocardial infarction (AMI) it's one of the most common pathologies in the industrialized countries and it usually happens when sudden decrease exists in the coronary blood flow after thrombotic occlusion of an coronary artery. Annexin V (ANV) is part of a family of proteins with vascular anticoagulant activity and the capacity of binding to the negatively charged phospholipids is closely associated with its physiological relevance in the haemostatic system. The potent anticoagulant activity of ANV is due to his inhibitory effect in the prothrombin activation, preventing the thrombus formation in normal conditions of arterial sanguine flow. This study had as objectives: to relate the polymorphism C-1T in the Annexin V Kozak sequence with the risk of AMI and to determine the polymorphism prevalence in the Portuguese population. The study involved the analysis of 100

*Correspondência:

Serviço de Patologia Clínica, Hospital de Santo André, SA
Rua das Olhalvas – Pousos, 2410-197 Leiria
E-mail: armando-caseiro@sapo.pt

patients and 104 controls, with and without AMI documented by angiography, respectively. The study was realized with resource to techniques of molecular biology: PCR and digestion with restriction enzyme *NCoI*. In this study were found normal individuals (C/C), heterozygous (C/T) and homozygous for the polymorphism (T/T). The frequency found in the Portuguese population went from 0,885 to the C allele

and 0,115 for the T allele. After the statistical analysis of the data, for the test of the Qui-square, we verified that they are not statistically significant. Like this, we can conclude that the C-1T polymorphism, by itself, doesn't constitute risk factor nor of protection for AMI.

Key Words: Annexin V • **C-1T** • acute myocardial infarction
Accepted for publication: 23 November 2004

INTRODUÇÃO

Oenfarte agudo do miocárdio (EAM) é uma das patologias mais comuns nos países industrializados. O EAM consiste em necrose irreversível do miocárdio, ocorrendo geralmente quando existe diminuição súbita no fluxo sanguíneo coronariano, após oclusão trombótica de uma artéria coronária previamente afectada pela aterosclerose (1,2).

Nos EUA ocorrem anualmente cerca de 1,5 milhões de enfartes. A taxa de mortalidade por EAM é de aproximadamente 30% (1).

A Anexina V (ANV) faz parte de uma família de proteínas com actividade anticoagulante vascular, que partilham semelhanças estruturais e têm a propriedade funcional de se ligarem aos fosfolípidos em presença de concentrações fisiológicas de cálcio. A ANV é o membro mais abundante deste grupo de proteínas, encontrado em vários tecidos, incluindo o sangue (3,4,5,6).

Existem vários sinónimos para a ANV: proteína placentária 4 (PP4), proteína placentária anticoagulante I (PAP I), proteína anticoagulante vascular alfa (VACA), ancorina CII, lipocortina-V e inibidor da tromboplastina. A ANV tem alta afinidade para fosfolípidos carregados negativamente, que se encontram abundantemente na face citosólica das membranas plasmáticas das células eucarióticas (3,7). A capacidade da ANV se ligar aos fosfolípidos carregados negativamente está estreitamente associada com a sua importância fisiológica no sistema hemostático. A potente actividade anticoagulante da ANV é decorrente do seu efeito inibitório na activação da protrombina, prevenindo a formação de trombos em condições normais de fluxo sanguíneo arterial ou venoso (3, 7, 8).

Foi demonstrada a capacidade da ANV de inibir tanto a via intrínseca como a via extrínseca da coagulação. Os alvos mais prováveis para o efeito anticoagulante da ANV são o complexo de factores intrínsecos (IXa/VIIIa/fosfolípidos), o complexo de factores extrínsecos (VIIa/FT/fosfolípidos) e o complexo protrombinase (Xa/Va/fosfolípidos) (7,8). Esta proteína foi também demonstrada como capaz de inibir a actividade da fosfolipase A2. Esta propriedade parece dotar a ANV de actividade anti-inflamatória devido à sua capacidade para prevenir a libertação de ácido araquidónico (3,9,10).

A administração intravenosa de ANV, em modelos animais, demonstrou actividade anti-trombótica, a qual é provavelmente baseada na actividade anticoagulante da ANV (11).

Estudos in vivo demonstraram que as células apoptóticas possuem uma potente superfície anticoagulante. Em patologias como a arteriosclerose, as células apoptóticas e as suas micropartículas derivadas parecem resistir à fagocitose, o que lhes aumenta a semi-vida podendo acelerar as reacções pró-coagulantes. A ANV devido à sua grande afinidade por estas superfícies num ambiente complexo do tecido, provavelmente forma um escudo anti-trombótico, que reduz o risco pró-trombótico associado à apoptose. A alta afinidade da ANV para a fosfatidilserina foi explorada como uma medida da apoptose em diversos tipos de células (7).

Juntos, estes achados sugerem um importante papel da ANV no braço anti-trombótico da balança hemostática, tornando a ANV num importante factor de risco genético para as patologias trombóticas (11).

O gene que codifica a ANV fica situado no cromossoma humano 4 q26-q28 estendendo-se por uma

região de DNA com 29 kb de comprimento que contém 13 exões e 12 intrões. A molécula madura de ANV é uma proteína de 35-36 kDa constituída por 319 resíduos de aminoácidos (3,4).

A sequência de Kozak ou sequência consenso, é uma sequência onde o codão AUG está incorporado e que permite que a subunidade 40s ribossómica reconheça este codão como codão de iniciação. A sequência foi chamada pelo nome Kozak depois de Marilyn Kozak ter efectuado um trabalho pioneiro sobre o início da tradução pelos ribossomas nas células eucarióticas. Esta actua diminuindo a velocidade de rastreio por parte do ribossoma e melhora as hipóteses deste começar a tradução detectando o codão de iniciação AUG (12,13).

A sequência de Kozak corresponde à sequência GCCPuCCAUGG. Os determinantes mais importantes na sequência são o G logo após o codão AUG e a purina, preferencialmente uma adenina, no terceiro nucleótido anterior a ele. A sequência de Kozak aumenta extremamente a eficiência da tradução e consequentemente a expressão global do produto do gene (12,13,14).

Este estudo populacional teve por objectivo relacionar o polimorfismo C-1T na sequência de Kozak do gene da Anexina V com o risco de EAM, pesquisando e comparando a prevalência do polimorfismo numa população controlo e em indivíduos com EAM. A prevalência deste polimorfismo ainda não está determinada na população portuguesa, sendo um dos objectivos do estudo determinar a prevalência do polimorfismo na região Centro de Portugal. Outro dos objectivos deste estudo foi comparar os resultados obtidos para a população portuguesa com os de outros estudos populacionais, tentando esclarecer o papel deste polimorfismo na patologia trombótica.

O conhecimento mais aprofundado dos factores de risco genético em relação ao EAM, pode contribuir para definir os mecanismos de actuação da doença, facilitando o desenvolvimento de meios profilácticos e terapêuticos.

MATERIAL E MÉTODOS

População

Este estudo foi efectuado em 204 indivíduos da região Centro de Portugal, que recorreram ao Centro Hospitalar de Coimbra: 100 pacientes com doença coronária por enfarte

agudo do miocárdio (DCEAM) comprovado por angiografia e 104 indivíduos controlo com doença coronária sem enfarte agudo do miocárdio (DCsEAM) documentado por angiografia.

A distribuição etária do grupo de doentes foi entre os 31 e os 84 anos (média 61 ± 11) sendo estes indivíduos predominantemente do sexo masculino (82%).

O grupo controlo, com idades compreendidas entre os 35 e os 90 anos (média 63 ± 10) era constituído por 73.1% de homens e 26.9% de mulheres. A população estudada (n=204) era constituída maioritariamente por indivíduos do sexo masculino (n=158; 77,5%) e por 46 indivíduos do sexo feminino (22,5%).

Estudos moleculares

Para os estudos moleculares foi utilizado sangue colhido por venipunctura para tubos de plástico de 1,5 ml com K3EDTA (ácido etilendiaminotetracético tripotássico: $1,50 \pm 0,25$ mg/ml sangue) ou 1/10 volumes 0,129 mol/l citrato trissódico.

O DNA genómico foi obtido de sangue total pelo método de salting out.

Nas reacções de amplificação por PCR foram utilizados 25 µl de uma mistura com a seguinte composição: 2,5 µl 10x tampão PCR (0,1M Tris-HCl—pH 8,3; 0,5 M KCl; 15 mM MgCl₂); 2 µl de dNTPs 2.5mM (Pharmacia Biotech, USA), 2,5 µl de cada primer 50 ng/µl (Tib Molbiol, Berlim, Alemanha), 0.1U de enzima Taq DNA polimerase (Amersham Biosciences, Piscataway, USA) e 300 ng de DNA alvo.

A reacção de amplificação ocorreu num termociclador (UNO II® Biometra, Göttingen, Alemanha) com uma primeira etapa de desnaturação a 95°C - 2 minutos, seguindo-se 30 ciclos: 45 segundos a 95°C; 1 minuto a 62.5°C; 1 minuto e trinta segundos a 72°C. No último ciclo efectuou-se uma extensão final de 10 minutos a 72°C.

As sequências dos primers utilizados foram: 5'GGGCACGAGTTGCAAATGGCG3' (primer directo) e 5'GTCGAGCATACAAAGTTGTG3' (primer reverso), de acordo com o descrito por Cookson et al (4).

Os produtos PCR foram sujeitos a electroforese em gel de agarose a 2%. O DNA foi corado no gel com brometo de etídio e visualizado sobre luz UV num transiluminador (Vilber Lourmat, França).

A mutação C-1T na sequência de Kozak do gene da Anexina V foi pesquisada por PCR/digestão com a endonuclease de restrição *NCOI* (Pharmacia Biotech, USA) incubando 15 µl do produto PCR com 5 U de *NCOI* a 37°C durante 3 horas, numa solução de volume final de 30 µl. A electroforese foi executada em gel de agarose a 3%, corada com brometo de etídio e analisada sobre luz UV.

RESULTADOS

Para a pesquisa do polimorfismo C-1T foi amplificado por PCR um fragmento de 153 pb que corresponde ao exão 2 e às regiões flanqueantes do gene da ANV e inclui o local do polimorfismo.

Numa situação normal, o fragmento amplificado de 153 pb possui local de restrição para a enzima *NcoI*, obtendo-se dois fragmentos de 67 e 87 pb. No entanto, a substituição C-1T anula o local de corte para aquela enzima, observando-se fragmentos com 153 pb. Após análise das amostras verificou-se que na população estudada encontravam-se os diferentes genótipos C/C, C/T e TT (Figura 1).

No grupo dos indivíduos controlos (DCsEAM), o genótipo C/C estava presente em 82 dos indivíduos estudados (78,8%); o genótipo C/T encontrou-se em 20 indivíduos (19,2%) e 2 indivíduos apresentavam o genótipo T/T (1,9%). A frequência do alelo C no grupo controlo foi de 0,885 e a frequência do alelo T foi de 0,115.

No grupo dos doentes (DCEAM), o genótipo C/C estava presente em 78 dos indivíduos estudados (75,0%); o genótipo C/T encontrou-se em 21 indivíduos (20,2%) e 1 indivíduo apresentou o genótipo T/T (1,0%).

Após a análise estatística dos dados apresentados, pelo teste do Qui-quadrado, verificou-se que não existem diferenças estatisticamente significativas quanto à prevalência do polimorfismo entre o grupo controlo e o dos doentes.

DISCUSSÃO

A Anexina V é uma proteína com alta afinidade para fosfolípidos em presença de cálcio, desempenhando o papel de um potente anti-trombótico devido ao seu efeito inibitório na activação da protrombina e à capacidade para prevenir a formação de trombos, inibindo ambas as vias da coagulação. Assim, polimorfismos que levem a alterações nos níveis plasmáticos desta proteína, podem interferir com o equilíbrio hemostático, prevenindo ou predispondo as patologias trombóticas.

Portanto, com o estudo do polimorfismo C-1T,

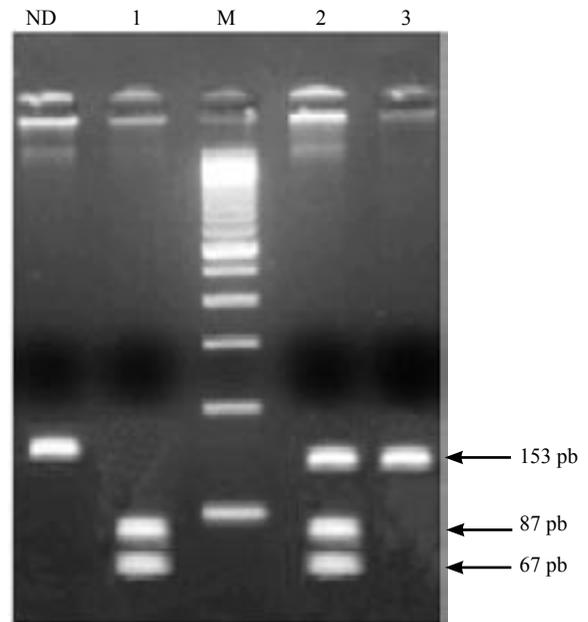


Figura 1 – Padrões electroforéticos dos fragmentos resultantes da digestão dos produtos PCR com a enzima de restrição *Nco I*. O peso molecular de cada banda está indicado no lado direito da figura; (ND) produto de PCR não digerido; (1) amostra de indivíduo com genótipo C/C; (M) marcador de peso molecular de 100 pb; (2) amostra de indivíduo com genótipo C/T; (3) amostra de indivíduo com genótipo T/T.

tentamos contribuir com mais informações para o esclarecimento da influência deste polimorfismo na expressão do gene da ANV e consequente importância como factor protector ou de risco para o EAM.

Após a análise estatística dos resultados, verifica-se que não existem diferenças estatisticamente significativas quanto à prevalência do polimorfismo entre o grupo controlo e o dos doentes, levando-nos a pensar que o polimorfismo em estudo não se apresenta como um factor de risco para a patologia trombótica arterial.

Em 2002, num estudo populacional efectuado em Espanha por González-Conejero *et al*, o polimorfismo C-1T na sequência de Kozak da ANV foi considerado como protector para o EAM em pacientes jovens, reduzindo o risco de enfarte em cerca de duas vezes (OR=0.57)(3). Nesse estudo efectuaram a determinação da prevalência do polimorfismo C-1T numa população controlo de 580 indivíduos da área Mediterrânica. Também neste estudo o genótipo C/C era o mais representado (76.9%); 22.1% dos indivíduos eram portadores da forma heterozigótica C/T e 1% dos controlos apresentavam o genótipo T/T. A frequência

alélica encontrada foi de 0.879 para o alelo C e de 0.121 para o alelo T (3).

Os resultados obtidos no nosso estudo em relação à prevalência do polimorfismo são semelhantes. O genótipo C/C estava presente em 78,8% dos indivíduos estudados o genótipo C/T encontrou-se em 19,2% indivíduos e 1,9% dos indivíduos apresentavam o genótipo T/T. A frequência do alelo C no grupo controlo foi de 0,885 e a frequência do alelo T foi de 0,115.

Segundo González-Conejero *et al*, a substituição C-1T resulta num aumento da eficiência de transcrição/tradução do gene da ANV, causando um aumento dos níveis de ANV circulante. Esta hipótese foi baseada em determinações *in vitro* da eficiência de transcrição/tradução e na análise dos níveis de ANV circulante em plasmas citrados de doentes. No entanto, segundo Van Heerde *et al*, não existem diferenças entre os níveis de ANV circulantes entre os portadores homocigóticos do alelo C e os portadores do alelo T (11).

Existe outro estudo sobre este polimorfismo, que apresenta conclusões divergentes, considerando que o alelo T aumenta ligeiramente o risco de EAM (OR=1.3). Esse risco era mais elevado em pacientes com menos de 50 anos (OR=1.5). Verificaram ainda que indivíduos que apresentassem em simultâneo o alelo T e o factor V Leiden ou a mutação 20210 na

protrombina, apresentava um risco triplicado de sofrer EAM (OR=2.8).

No nosso estudo não se verificaram relações entre o alelo T do polimorfismo C-1T e a idade e sexo dos indivíduos, pois a distribuição das idades e dos sexos era semelhante nos doentes e nos controlos. Em relação à associação com o factor V Leiden e com a mutação 20210 na protrombina também não se verificaram diferenças, pois os indivíduos que apresentavam o alelo T da população em estudo eram negativos para o factor V Leiden e para a mutação 20210 na protrombina.

Após o estudo do polimorfismo C-1T na sequência de Kozak da Anexina V em doentes com doença coronária com enfarte agudo do miocárdio e sem enfarte agudo do miocárdio, pode-se concluir que não existem diferenças estatisticamente significativas entre o grupo controlo e os doentes, verificando-se que o polimorfismo C-1T, por si só, não constitui factor de risco nem de protecção para o EAM. Concluiu-se também que a prevalência deste polimorfismo na população portuguesa do centro do país é semelhante à apresentada pela população espanhola.

Existem ainda poucos estudos sobre este polimorfismo e que apresentam resultados contraditórios, pelo que é importante continuar a estudá-lo e tentar esclarecer melhor qual a sua importância e influência no equilíbrio hemostático e em todas as patologias associadas à sua desregulação.

REFERÊNCIAS

1. Antman EM, Braunwald E. Enfarto Agudo do Miocárdio. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JB, Martin JD, Kasper DL, *et al*, eds. *Harrison Medicina Interna*. 14ª ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill; 1998. p. 1443-1456.
2. Miles WM, Zipes DP. Doenças cardiovasculares. In: Andreoli TE, Bennett JC, Carpenter CC, *et al*, eds. *Medicina Interna Básica*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002. p. 61-68.
3. González-Conejero R, Corral J, Roldán V, Martínez C, Marín F, Rivera J, *et al*. A common polymorphism in the annexin V Kozak sequence (-1C>T) increases translation efficiency and plasma levels of annexin V, and decreases the risk of myocardial infarction in young patients. *Blood* 2002; **100**: 2081-2086.
4. Cookson BT, Engelhardt S, Smith C, Bamford HA, Prochazka M, Tait JF. Organization of the Human Annexin V (ANX5) Gene. *Genomics* 1994; **20**(3): 463-467.
5. Rand JH. "Annexinopathies" a new class of diseases. *N Engl J Med* 1999; **340**(13): 1035-1036.
6. Gerke V, Moss SE. Annexins: From Structure to Function. *Physiol Rev* 2002; **82**(2): 331-371.
7. Reutelingsperger CP. Annexins: key regulators of haemostasis, thrombosis, and apoptosis. *Thromb Haemost* 2001; **86**(1): 413-419.
8. Van Heerde WL, *et al*. Binding of recombinant annexin V to endothelial cells: effect of annexin V binding on endothelial-cell-mediated thrombin formation. *Biochem J* 1994; **302**: 305-312.
9. Huber R, *et al*. Crystal and molecular structure of human annexin V after refinement. Implications for structure, membrane binding and ion channel formation of the annexin family of proteins. *J Mol Biol* 1992; **223**: 683-704.

10. Buckland AG, Wilton DC. Inhibition of human cytosolic phospholipase A2 by human annexin V. *Biochem J* 1998; **329**(2): 369-372.
11. Van Heerde WL, *et al.* The C-1T mutation in the annexin A5 Kozak sequence slightly increases the risk of myocardial infarction in men. *J Thromb Haemost* 2003; **1**: 2688-2689.
12. Kozak M. Point mutations define a sequence flanking the AUG initiator codon that modulates translation by eukaryotic ribosomes. *Cell* 1986; **44**(2):283-292.
13. Strachan T, Read AP. *Genética Molecular Humana*. 2ª ed. São Paulo: Artemed Editora; 2002; p. 17-19.
14. Kozak M. Analysis of 5'- noncoding sequences from 699 vertebrate messenger RNAs. *Nucleic Acids Res* 1987; **15**(20): 8125-8148.

A Homocisteinémia no Acidente Vascular Cerebral

*MOISÉS BRITO VAZ¹, MARIA JOSÉ REIS¹

¹Laboratório de Patologia Clínica do Hospital de S. Teotónio S.A., Viseu

RESUMO

O Acidente Vascular Cerebral (AVC) é a primeira causa de morte em Portugal e a segunda no mundo. A presença de determinados factores de risco aumenta a probabilidade de AVC's. O aumento da homocisteína (HCY) no sangue é considerado um factor de risco de AVC. Foi nosso objectivo verificar se valores elevados de homocisteinémia são factor de risco de AVC de origem isquémica e hemorrágica em indivíduos de ambos os sexos. O estudo incidiu sobre 54 indivíduos do distrito de Viseu de ambos os sexos, com idade igual ou inferior a 65 anos que sofreram o primeiro episódio de AVC (isquémico ou hemorrágico). Foi estudado um grupo controlo constituído por 54 indivíduos. Os níveis de homocisteinémia foram mais elevados nos doentes (10,61±3,49 µmol/L) que nos controlos (8,43±1,86 µmol/L; p=0,000). Nos indivíduos do sexo feminino os níveis de homocisteinémia foram estatisticamente mais elevados nos doentes (9,14±3,29 µmol/L) que nos controlos (7,62±1,36 µmol/L; p=0,027), assim como nos indivíduos do sexo masculino em que os níveis foram também mais elevados nos doentes (12,32±2,94 µmol/L) que nos controlos (9,36±1,95 µmol/L; p=0,000). No AVC isquémico os níveis de homocisteinémia foram estatisticamente mais elevados nos doentes (10,49±3,48 µmol/L) que nos controlos (8,43±1,86 µmol/L; p=0,001), o mesmo se observou no AVC hemorrágico com níveis mais elevados nos doentes (11,06±3,62 µmol/L) que nos controlos (8,43±1,86 µmol/L; p=0,030). Conclui-se portanto que níveis elevados de homocisteinémia são um factor de risco tanto em AVC's de origem isquémica como nos de origem hemorrágica, em indivíduos de ambos os sexos.

*Correspondência:

Serv. de Patologia Clínica, Hospital de S. Teotónio Viseu, S.A.
Avenida Rei D. Duarte - 3504-509 Viseu
E-mail: moisesvaz@portugalmail.pt

Palavras-chave: homocisteína • acidente vascular cerebral • factor de risco

Aceite para publicação: 10 de Dezembro de 2004

ABSTRACT

Stroke is the first cause of death in Portugal and second in the world. The presence of determined risk factors increases the probability of stroke. The increase of homocysteine (HCY) in the blood is considered a risk factor of stroke. It was our objective to verify if high values of homocysteinemia are a risk factor of ischemic and hemorrhagic stroke, in individuals of both the sexes. The study admitted 54 individuals of the district of Viseu of both the sexes, with age under or equal to 65 years that had suffered the first episode of stroke (ischemic or hemorrhagic). A control group was studied consisting of 54 individuals. The overall homocysteinemia levels was higher in cases (10,61±3,49 µmol/L) than in controls (8,43±1,86 µmol/L; p=0,000). In the individuals of the feminine sex the homocysteinemia levels were higher in cases (9,14±3,29 µmol/L) than in controls (7,62±1,36 µmol/L; p=0,027), as well in the individuals of the masculine sex where the homocysteinemia levels was higher in cases (12,32±2,94 µmol/L) than in controls (9,36±1,95 µmol/L; p=0,000). In the ischemic stroke the homocysteinemia levels was higher in cases (10,49±3,48 µmol/L) than in controls (8,43±1,86 µmol/L; p=0,001), the same was observed in the hemorrhagic stroke with higher levels in cases (11,06±3,62 µmol/L) than in controls (8,43±1,86 µmol/L; p=0,030). We can conclude that high levels of homocysteinemia are a risk factor of ischemic and hemorrhagic stroke, in individuals of both the sexes.

Key Words: homocysteine • stroke • risk factor

Accepted for publication: 10 December 2004

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte em Portugal (1) e no mundo (2). Nestas inclui-se o Acidente Vascular Cerebral (AVC) que, no ano de 2000, segundo a Organização Mundial de Saúde, foi a segunda causa de morte no mundo (2), enquanto que em Portugal, de acordo com os dados do Instituto Nacional de Estatística, o AVC constitui a primeira causa de morte (1).

Os AVC's podem ser de origem isquémica ou hemorrágica. No AVC isquémico ocorrem danos nas células neuronais por redução ou interrupção do fluxo sanguíneo, devido a estreitamento arterial ou em consequência de um êmbolo circulante que se aloja numa artéria de menor calibre obstruindo-a. No AVC hemorrágico ocorrem alterações da permeabilidade da parede vascular e, por vezes, ruptura do vaso sanguíneo com extravasamento de sangue e consequente dano das células neuronais devido ao aumento de pressão no cérebro. As alterações neurológicas associadas ao AVC dependem da localização e extensão das células neuronais danificadas (3).

A presença de determinados factores de risco aumenta a probabilidade de AVC's, sendo a prevenção, através da identificação e diminuição dos factores de risco, a principal forma de reduzir o número de vítimas de AVC. Embora os factores de risco clássicos como dislipidémias, hipertensão, diabetes, tabagismo e obesidade sejam responsáveis por parte dos casos de AVC há, no entanto, muitos outros não explicáveis por estes factores, havendo necessidade de investigar outros factores de riscos, dos quais faz parte a homocisteinémia elevada. Níveis sanguíneos de homocisteína (HCY) entre 5 a 15 $\mu\text{mol/L}$ nos homens e 5 a 12 $\mu\text{mol/L}$ nas mulheres são considerados normais (4).

A HCY é um aminoácido sulfurado formado durante o metabolismo da metionina e cuja concentração no sangue depende essencialmente do equilíbrio entre dois processos metabólicos, em que a HCY é metabolizada em cisteína ou em metionina. Um dos processos é a desmetilação e trans-sulfuração da HCY em cisteína, catalizada pela cistationina- β -sintetase, onde a vitamina B6 funciona como co-factor na trans-sulfuração, sendo a cisteína depois excretada pela urina. No outro processo a HCY é remetilada em metionina pela enzima metionina sintetase, funcionando o ácido

fólico e a vitamina B12 como co-factores. As alterações funcionais das enzimas e os défices dos co-factores envolvidos no metabolismo são as principais causas do aumento da HCY no sangue (5).

Os indivíduos com doenças renais crónicas apresentam frequentemente concentrações elevadas de HCY no sangue, essencialmente por deficiente eliminação renal da HCY pelo rim (6). Os doentes submetidos a terapêuticas com metotrexato, carbamazepina, fenitoína, ciclosporina, óxido nítrico e triacetato de azauridina apresentam níveis de homocisteinémia aumentados devido ao efeito destas substâncias no processo metabólico da HCY (5,7).

O aumento ainda que moderado de homocisteinémia é considerado um factor de risco independente de aterosclerose (5). Embora não se conheçam todos os mecanismos envolvidos no processo aterosclerótico, estudos apontam no sentido da HCY exercer numerosas acções, tanto sobre o endotélio como sobre os componentes do sangue levando à perda de elasticidade e fibrose do endotélio características da lesão aterosclerótica. Exerce acções pró-inflamatórias ao aumentar a expressão de moléculas de adesão endoteliais (8), factores quimiotáticos e citocinas (9) favorecendo a interacção dos monócitos com o endotélio, e acções pró-trombóticas interferindo com os mecanismos de coagulação (10) e adesão plaquetar (11). Exacerba ainda o stress oxidativo, limitando a biodisponibilidade do óxido nítrico e estimulando a proliferação no endotélio de células do músculo liso e de colagénio (12).

Vários estudos retrospectivos e prospectivos relatam a correlação entre aumentos moderados de homocisteinémia e doenças cardiovasculares (10,13), nomeadamente doença isquémica cardíaca (13), angina instável (14), trombose venosa profunda (13) e AVC isquémico (13,15,16,17,18,19,20,21,22) e hemorrágico (21,22). Nos doentes com AVC o elevado teor sanguíneo de HCY é indicador de má recuperação (23) e de maior probabilidade de AVC's recorrentes (24).

A redução sérica nos valores de HCY é conseguida de uma maneira eficaz, segura e económica por simples tratamento com ácido fólico e vitaminas B6 e B12 (4,10), verificando-se que o decréscimo de 3 $\mu\text{mol/L}$

no nível sérico de HCY reduz o risco de AVC em 24% (13). Os custos associados à identificação e diminuição de níveis séricos elevados de HCY são indubitavelmente muito inferiores aos danos humanos e custos associadas ao tratamento dos pacientes com AVC's (25).

Com este estudo pretendeu-se verificar se valores elevados de homocisteinémia são factor de risco de AVC de origem isquémica e hemorrágica em indivíduos de ambos os sexos do distrito de Viseu.

MATERIAL E MÉTODOS

Grupo com doença

Este estudo incidiu sobre 54 indivíduos do distrito de Viseu de ambos os sexos, com idade inferior ou igual a 65 anos que sofreram o primeiro episódio de AVC (isquémico ou hemorrágico), admitidos no Hospital de São Teotónio de Viseu, SA, entre Janeiro de 2002 e Abril de 2004, a quem foi requisitado pelo médico assistente a determinação de homocisteinémia.

Foram excluídos indivíduos com doenças renais crónicas, hemorragia intracraniana traumática, acidente isquémico transitório (AIT) e com antecedentes de doenças cardiovasculares. Foram igualmente excluídos indivíduos submetidos a terapêuticas com S-adenosilmetionina, metotrexato, ciclosporina, carbamazepina, fenitoína, óxido nítrico, triacetato de azauridina, ácido fólico e vitaminas B6 e B12.

Grupo controlo

O grupo controlo foi constituído por 54 indivíduos do distrito de Viseu, com distribuição por idade e sexo, idêntica ao grupo com doença, e em cuja avaliação de rotina está englobada a homocisteinémia.

Metodologia

O diagnóstico diferencial entre AVC isquémico e AVC hemorrágico foi feito através das alterações neurológicas típicas e por tomografia axial computadorizada (TAC).

A todos os indivíduos incluídos no estudo foi feita uma colheita de sangue periférico, para obtenção de soro (tubo sem preparação). Nos doentes com AVC a colheita de sangue foi efectuada nos primeiros 4 dias após o episódio de AVC. A centrifugação foi processada no intervalo de 1 hora a 3500 rpm, durante 10 minutos, a 8°C (7). A HCY sérica foi avaliada por imunoensaio de fluorescência polarizada, no aparelho AXSYM® Abbott Laboratories (Alemanha). Todos os reagentes, controlos e calibradores foram adquiridos à mesma casa comercial.

Este estudo teve a aprovação da Comissão de Ética do Hospital de São Teotónio de Viseu, SA.

Tratamento estatístico

Os resultados laboratoriais e clínicos foram registados, e analisados com auxílio do programa informático SPSS (versão 10.0). Os resultados foram expressos em média±desvio padrão (SD).

Foi usado o teste t de Student para comparação de médias para amostras independentes, sendo os resultados considerados significativos se $p < 0,05$.

RESULTADOS

Durante o período do estudo foram admitidos 108 indivíduos (54 doentes e 54 controlos). Nos doentes a colheita de sangue periférico foi efectuada nos primeiros 4 dias após o AVC, em média $2,85 \pm 1,12$ dias após o episódio.

Os doentes com AVC revelaram idades compreendidas entre 30 e 64 anos (idade média $52,74 \pm 7,85$ anos), e os controlos mostrando idades compreendidas entre 30 e 64 anos (idade média $52,56 \pm 7,86$ anos), não havendo diferença estatisticamente significativa entre a idade dos indivíduos com AVC e os controlos ($p=0,903$). Ambos os grupos, doença e controlo, eram compostos por 29 (53,7%) indivíduos do sexo feminino e 25 (46,3%) indivíduos do sexo masculino (Tabela I).

No total dos indivíduos a média dos níveis de homocisteinémia foi significativamente mais elevada nos doentes ($10,61 \pm 3,49$ $\mu\text{mol/L}$) comparativamente com os controlos ($8,43 \pm 1,86$ $\mu\text{mol/L}$; $p=0,000$). Nos indivíduos do sexo feminino os níveis de homocisteinémia foram estatisticamente mais elevados nos doentes ($9,14 \pm 3,29$ $\mu\text{mol/L}$) que nos controlos ($7,62 \pm 1,36$ $\mu\text{mol/L}$; $p=0,027$), assim como nos indivíduos do sexo masculino em que os níveis de homocisteinémia foram também mais elevados nos doentes ($12,32 \pm 2,94$ $\mu\text{mol/L}$) que nos controlos ($9,36 \pm 1,95$ $\mu\text{mol/L}$; $p=0,000$) (Tabela II).

Dos 54 doentes com AVC, 42 (77,8%) tinham AVC isquémico e 12 (22,2%) AVC hemorrágico. Os 42 doentes com AVC isquémico tinham idades compreendidas entre os 30 e os 64 anos (idade média $53,07 \pm 7,85$ anos), sendo 23 (54,8%) do sexo feminino e 19 (45,2%) do sexo masculino. Os 12 doentes com AVC hemorrágico tinham idades compreendidas entre

Tabela I - Caracterização da população estudada.

	Doentes	Controlos
Sexo		
Feminino, n (%)	29 (53,7)	29 (53,7)
Masculino, n (%)	25 (46,3)	25 (46,3)
Idade, anos (média±SD)	52,74±7,85	52,56±7,86
Tipo de AVC		
Isquémico, n (%)	42 (77,8)	—
Hemorrágico, n (%)	12 (22,2)	—
Tempo de evolução da doença, dias (média±SD)	2,85±1,12	—

Tabela II - Nível de homocisteinémia de acordo com o sexo e tipo de AVC.

	Doentes (n=54)	Controlos (n=54)	p (Teste t)†
Total	10,61±3,49*	8,43±1,86 *	0,000
Sexo Feminino	9,14±3,29*	7,62±1,36*	0,027
Sexo Masculino	12,32±2,94*	9,36±1,95*	0,000
AVC Isquémico	10,49±3,48*	8,43±1,86*	0,001
AVC Hemorrágico	11,06±3,62*	8,43±1,86*	0,030

*Média±SD expressos em micromoles por litro.

†Doentes vs controlos, considerando-se significativos valores de $p < 0,05$.

os 40 e os 64 anos (idade média 51,58±8,06 anos), sendo 6 (50%) do sexo feminino e 6 (50%) do sexo masculino.

No AVC isquémico a média dos níveis de homocisteinémia foi estatisticamente mais elevada nos doentes (10,49±3,48 µmol/L) que nos controlos (8,43±1,86 µmol/L; $p=0,001$), o mesmo se observou no AVC hemorrágico com níveis de homocisteinémia mais elevados nos doentes (11,06±3,62 µmol/L) que nos controlos (8,43±1,86 µmol/L; $p=0,030$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os níveis de homocisteinémia em doentes com AVC isquémico (10,49±3,48 µmol/L) e com AVC hemorrágico (11,06±3,62 µmol/L; $p=0,621$).

No grupo controlo os níveis de homocisteinémia mostraram-se mais baixos nos indivíduos do sexo feminino (7,62±1,36 µmol/L) que nos indivíduos do sexo masculino (9,37±1,95 µmol/L; $P=0,000$), o mesmo se observou nos doentes em que os indivíduos do sexo feminino apresentaram níveis mais baixos (9,14±3,29 µmol/L) do que os indivíduos do sexo masculino (12,32±2,94 µmol/L; $p=0,000$).

DISCUSSÃO

Estudos apontam no sentido da HCY exercer um conjunto de acções pró-inflamatórias e pró-trombóticas,

actuando sobre o endotélio e sobre componentes do sangue, levando à perda de elasticidade e fibrose do endotélio, o que a torna um factor de patogénese biologicamente plausível dos AVC's isquémicos e hemorrágicos.

Este estudo analisou o nível de homocisteinémia com o objectivo de verificar se constitui factor de risco de AVC isquémico e hemorrágico em indivíduos de ambos os sexos.

Os dados obtidos no nosso estudo demonstram que existe uma associação estatisticamente significativa entre níveis elevados de homocisteinémia e os AVC's isquémicos e hemorrágicos. Os resultados obtidos estão de acordo com outros estudos sobre AVC isquémico (13,15,16,17,18,19,20,21,22) e, apesar de haver poucos trabalhos publicados sobre AVC hemorrágico, os resultados obtidos são semelhantes (21,22). Houve no entanto um estudo (26) no qual não se verificou um aumento estatisticamente significativo entre os doentes com AVC e os controlos. Este resultado poderá estar relacionado com o facto dos controlos incluídos serem relativamente poucos ($n=20$), e englobarem indivíduos com lesões cerebrais não vasculares, sujeitos a cirurgias, com tumores cerebrais ($n=8$) e epilepsia ($n=1$). Como neste estudo os critérios de exclusão não abrangiam indivíduos submetidos a terapêuticas com metotrexato, carbamazepina, fenitoína nem óxido nítrico, poderá ter ocorrido enviesamento

dos resultados principalmente no grupo controlo.

Os dados obtidos no nosso estudo demonstram também que não há diferença estatisticamente significativa dos níveis de homocisteinémia entre os doentes com AVC isquémico e hemorrágico, o que está de acordo com outros autores (21). Estes dados poderão indicar que a homocisteinémia é um factor de risco semelhante tanto no AVC isquémico como no hemorrágico.

Quanto ao sexo, os resultados obtidos apontam para que níveis elevados de homocisteinémia sejam um factor de risco tanto em indivíduos do sexo feminino como do sexo masculino. No grupo controlo os indivíduos do sexo masculino apresentam níveis de homocisteinémia mais elevados que os indivíduos do sexo feminino, o que se encontra de acordo com a literatura consultada (4,5). Isto pode ser parcialmente explicado pelas diferenças entre os sexos na trans-sulfuração e remetilação da HCY, em que a remetilação é mais eficiente nas mulheres e a trans-sulfuração é mais eficiente nos homens (4).

Na nossa população o AVC isquémico correspondeu a 77,8% e o hemorrágico a 22,2% do total de AVC's. Esta distribuição é semelhante à literatura revista (26,27,28).

Os pontos fortes do nosso estudo passam por um conjunto de medidas que visam reduzir o risco de enviesamento dos resultados. Estas medidas incluem a aplicação de critérios de exclusão, a inclusão apenas de doentes com AVC's confirmados por TAC, assim como o uso de um grupo controlo da mesma região, com distribuição de idade e sexo idêntica ao grupo com doença. Outro aspecto, talvez o mais importante neste estudo, foi incluir apenas os doentes que efectuaram a colheita de sangue periférico nos primeiros 4 dias após o AVC. Vários estudos apontam para um aumento dos níveis de homocisteinémia entre a primeira semana após o AVC e o período de convalescença

(29,30,31). Segundo estes estudos a interpretação do nível de homocisteína depende do período de tempo que medeia entre o AVC e a colheita da amostra de sangue. Os resultados do nosso estudo demonstram que há uma diferença estatisticamente significativa do teor de homocisteinémia dos doentes com AVC comparativamente ao grupo controlo. Esta diferença é ainda mais relevante uma vez que foi obtida no período imediato após o AVC onde os níveis de homocisteinémia se encontram mais baixos.

Como possíveis limitações do nosso estudo podemos considerar o número relativamente baixo de indivíduos estudados, principalmente no caso de doentes com AVC hemorrágico. Também não foram avaliados outros factores de risco de AVC para além da idade, sexo, homocisteinémia e doenças cardiovasculares.

Durante o período do estudo foram admitidos 54 doentes com AVC, onde 53,7% eram do sexo feminino e 46,3% do sexo masculino, verificando-se, pois, um predomínio do sexo feminino, contrariamente aos estudos publicados (4,29,31) que apontam para uma maior prevalência de AVC nos indivíduos do sexo masculino. A maior prevalência de indivíduos do sexo feminino no nosso estudo poderá ser em parte explicado pela inclusão no estudo apenas dos indivíduos com AVC aos quais tenha sido pedido pelo médico assistente a homocisteinémia.

Em conclusão o nosso estudo sugere que níveis elevados de homocisteinémia são um factor de risco tanto nos AVC's de origem isquémica como nos de origem hemorrágica. Demonstramos também que os níveis elevados de homocisteinémia são um factor de risco de AVC em indivíduos de ambos os sexos.

Estes dados remetem-nos para a necessidade de determinar o nível de homocisteinémia em indivíduos de ambos os sexos, e consequentemente implementar terapêutica com ácido fólico e vitaminas B12 e B6 para redução de valores elevados de homocisteinémia.

REFERÊNCIAS

1. www.ine.pt/proserv/indicadores/quadros.asp?codInd=39
2. www.who.int/mip/2003/other_documents/en/causesofdeath.pdf
3. Seeley RR, Stephens TD, Tate P. Anatomia e Fisiologia. 1ª Edição. Lisboa (Portugal): Lusodidacta; 2001.
4. Goldstein LB, Adams R, Becker K, Furber CD, Gorelick PB, Hademenos G, et al. Primary Prevention of Ischemic Stroke. A Statement for Healthcare Professionals from the Stroke Council of the American Heart Association. *Circulation* 2001; **103**: 163-82.
5. Durand P, Prost M, Loreau N, Lussier-Cacan S, Blache D. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic

- disease. *Lab Invest* 2001; **81**: 645-72.
6. Clarke R, Lewington S, Landray M. Homocysteine, renal function, and risk of cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl* 2003; **84**: S131-3.
 7. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Anderson A, Allen RH. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993; **39**: 1764-79.
 8. Silverman MD, Tumuluri RJ, Davis M, Lopez G, Rosenbaum JT, Lelkes PI. Homocysteine upregulates vascular cell adhesion molecule-1 expression in cultured human aortic endothelial cells and enhances monocyte adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; **22**: 587-92.
 9. Zeng X, Dai J, Remick DG, Wang X. Homocysteine mediated expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human monocytes. *Circ Res* 2003; **93**: 311-20.
 10. Páramo JA, Tacchi C, Rodriguez JA, Orbe J, Rocha E. Seguimiento y tratamiento de pacientes con hiperhomocisteinemia. *Haematologica* (ed. esp.) 2002; **87** Suppl 1: 149-55.
 11. Dardik R, Varon D, Tamarin I, Zivelin A, Salomon O, Shenkman B, et al. Homocysteine and oxidized low density lipoprotein enhanced platelet adhesion to endothelial cells under flow conditions: distinct mechanisms of thrombogenic modulation. *Thromb Haemost* 2000; **83**: 338-44.
 12. Rodrigo R, Passalacqua W, Araya J, Orellana M, Rivera G. Implications of oxidative stress and homocysteine in the pathophysiology of essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; **42**: 453-61.
 13. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002; **325**: 1202-8.
 14. Tavares JR, D'Almeida V, Diniz DC, Terzi CA, Cruz EN, Stefanini E, et al. Analysis of plasma homocysteine levels in patients with unstable angina. *Arq Bras Cardiol* 2002; **79**: 167-72.
 15. Tan NC, Venketasubramanian N, Saw SM, Tjia HT. Hyperhomocyst(e)inemia and risk of ischemic stroke among young Asian adults. *Stroke* 2002; **33**: 1956-62.
 16. Eikelboom JW, Hankey GJ, Anand SS, Lofthouse E, Staples N, Baker RI. Association between high homocyst(e)ine and ischemic stroke due to large- and small-artery disease but not other etiologic subtypes of ischemic stroke. *Stroke* 2000; **31**: 1069-75.
 17. Madonna P, Stefano V, Coppola A, Cirillo, Cerbone AM, Orefice G, et al. Hyperhomocysteinemia and Other Inherited Prothrombotic Conditions in Young Adults With a History of Ischemic Stroke. *Stroke* 2002; **33**: 51-6.
 18. Yoo JH, Chung CS, Kang SS. Relation of Homocysteine to Cerebral Infarction and Cerebral Atherosclerosis. *Stroke* 1998; **29**: 2478-83.
 19. Stehouwer CD, Weijnenberg MP, Berg MV, Jakobs C, Feskens EJ. Serum Homocysteine and Risk of Coronary Disease and Cerebrovascular Disease in Elderly Men. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 1998; **18**: 1895-901.
 20. Kossi MM, Zakhary MM. Oxidative stress in the Context of Acute Cerebrovascular Stroke. *Stroke* 2000; **31**: 1889-92.
 21. Ribo M, Montaner J, Monasterio J, Molina C, Arenillas J, Chacon P, et al. Role of homocysteine in the acute phase of stroke. *Neurologia* 2004; **19**: 10-4.
 22. Li Z, Sun L, Zhang H, Liao Y, Wang D, Zhao B, et al. Elevated plasma homocysteine was associated with hemorrhagic and ischemic stroke, but methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism was a risk factor for thrombotic stroke: a Multicenter Case-Control Study in China. *Stroke* 2003; **34**: 2085-90.
 23. Pniewski J, Chodakowska-Zebrowska M, Wozniak R, Stepień K, Stafiej A. Plasma homocysteine level and the course of ischemic stroke. *Acta Neurobiol Exp* 2003; **63**: 127-30.
 24. Boysen G, Brander T, Christensen H, Gideon R, Truelsen T. Homocysteine and risk of recurrent stroke. *Stroke* 2003; **34**: 1258-61.
 25. Van Exel J, Koopmanschap MA, Van Wijngaarden JD, Scholte Op Reimer WJ. Costs of stroke and stroke services: Determinants of patient costs and a comparison of costs of regular care and care organised in stroke services. *Cost Eff Resour Alloc* 2003; **1**: 2-12.
 26. Sacher Y, Soroker N, Motin M, Treger I, Ring H, Sela B. Blood homocysteine levels in stroke patients undergoing rehabilitation. *Med Sci Monit* 2003; **9**: CR253-59.
 27. Cardoso T, Fonseca T, Costa M. Acidente Vascular Cerebral no Adulto Jovem. *Acta Médica Portuguesa* 2003; **16**: 239-44.
 28. Caplan LR, Baringer JR. Acidente Vascular Cerebral Agudo – O Quadro Completo. *Hospital Practice* 2002; **6**: 31.
 29. Meiklejohn DJ, Vickers MA, Dijkhuisen R, Greaves M. Plasma Homocysteine Concentrations in the Acute and Convalescent Periods of Atherothrombotic Stroke. *Stroke* 2001; **32**: 57-62.
 30. Lindgren A, Brattström L, Norrving B, Hultberg B, Andersson A, Johansson BB. Plasma Homocysteine in the Acute and Convalescent Phases After Stroke. *Stroke* 1995; **26**: 795-800.
 31. Howard VJ, Sides EG, Newman GC, Cohen SN, Howard G, Malinow MR, et al. Changes in Plasma Homocysteine Concentrations in the Acute Phase After Stroke. *Stroke* 2002; **33**: 473-78.

A IgE Total e o Diagnóstico de Alergia na Criança

*MARIA JOSÉ REIS¹, MOISÉS BRITO VAZ¹

¹Laboratório de Patologia Clínica do Hospital de S. Teotónio S.A., Viseu

RESUMO

A alergia pode ser definida como uma reacção de hipersensibilidade mediada por mecanismos imunológicos, na maioria dos casos o anticorpo responsável por essa reacção alérgica pertence ao isotipo IgE. Porém existem pacientes com alergia que apresentam níveis de IgE total dentro dos valores normais. Normalmente a metodologia laboratorial usada para o rastreio de uma alergia inicia-se pela quantificação da IgE total e, no caso de valores elevados, testes de rastreio para pesquisa de anticorpos IgE específicos a alérgenos inalantes e alimentares comuns. Pretende-se sugerir uma metodologia laboratorial de rastreio alergológico adequada e aumentar a rapidez de diagnóstico. O estudo incidiu sobre indivíduos do distrito de Viseu de ambos os sexos e com idades compreendidas entre os 0 e os 14 anos (inclusive) aos quais foram efectuadas análises de IgE total, Phadiotop e Fx5E, durante os anos de 2002 e 2003 e nos primeiros cinco meses de 2004. Dos 158 indivíduos com testes de rastreio de alergia positivos, 52 (32,9%) mostraram níveis séricos de IgE total dentro dos intervalos de referência, e em 106 (67,1%) o nível de IgE total revelou-se elevado. Com os resultados deste estudo verifica-se que caso o diagnóstico de alergia assente apenas no valor da concentração sérica da IgE total, 32,9% das alergias não seriam detectadas. Perante uma suspeita de alergia propõe-se que sejam efectuados os testes de rastreio para pesquisa de anticorpos IgE específicos além da IgE total, para que o maior número possível de alergias, quer inalantes quer alimentares sejam detectadas.

*Correspondência:

Serviço de Patologia Clínica
Hospital de São Teotónio de Viseu, S.A.
Avenida Rei D. Duarte - 3504-509 Viseu
E-mail: mjreis@portugalmail.pt

Palavras-chave: IgE total • Alergia • Phadiotop • Fx5E

Aceite para publicação: 29 de Novembro de 2004

ABSTRACT

The allergy can be defined as a hypersensitivity reaction mediated by immunologic mechanisms. In the majority of the cases the responsible antibody for this allergic response belongs to isotype IgE. However there are patients with allergy that present levels of total IgE in normal values. Normally the used laboratorial methodology for the screening of an allergy is initiated with the quantification of the total IgE and in the case of raised values, screening tests for research of specific IgE antibodies against common inhalant or food allergens. It is intended to suggest an efficient laboratorial screening methodology of allergy and to increase the rapidity of diagnosis. The authors studied individuals of the district of Viseu of both sexes and with ages between the 0 and 14 years to which analyses of total IgE, Phadiotop and Fx5E had been made, during the years of 2002 and 2003 and in the first five months of 2004. Of the 158 individuals with positive screening tests of allergy, 52 (32,9%) had normal serum levels of total IgE, and in 106 (67,1%) the level of total IgE showed high. With the results of this study it is verified that in case the allergy diagnosis seats only in the concentration of total IgE, 32,9% of the allergies would not be detected. Facing a suspicion of allergy, the authors propose screening tests for research of specific IgE antibodies and total IgE, so that the biggest possible number of inhalant or food allergies is detected.

Key words: Total IgE • Allergy • Phadiotop • FX5E

Accepted for publication: 29 November 2004

INTRODUÇÃO

Nos países desenvolvidos a doença alérgica encontra-se entre as doenças crónicas mais comuns afectando entre 15 e 30% da população (1,2), existindo uma grande prevalência de doenças alérgicas nas crianças (3).

A presença no ambiente de um número cada vez maior de substâncias agressivas, o aumento de substâncias alergizantes nos alimentos, na água e em contacto com a pele, e a crescente poluição urbana e industrial são factores que contribuem para o desenvolvimento da doença alérgica, levando a uma crescente necessidade de se efectuarem estudos alergológicos (1).

A alergia pode ser definida como uma reacção de hipersensibilidade mediada por mecanismos imunológicos. Essa reacção do organismo (hipersensibilidade) desencadeia-se devido à actividade excessiva e inadequada do sistema imune, quando exposto a alergénios não potencialmente tóxicos como pólen, poeira doméstica, pêlos de animais, e outros (4).

Para a maioria das pessoas, o contacto com esses alergénios não estimula inflamação nem imunidade adaptativa. Porém, em algumas circunstâncias certos tipos de substâncias inócuas estimulam uma resposta imune adaptativa e o desenvolvimento de memória imunológica em alguns indivíduos (2).

Algumas pessoas têm uma predisposição hereditária para o desenvolvimento de reacções de hipersensibilidade imediata contra os alergénios ambientais comuns, denominada atopia (5,6).

A resposta imune requer uma série de moléculas efectoras que via mecanismos vários actuam com a finalidade de remover o antigénio. Normalmente estas moléculas efectoras induzem uma resposta inflamatória subclínica e localizada, que elimina o alergénio sem causar grande dano ao tecido do hospedeiro. Porém sob determinadas circunstâncias esta reacção inflamatória pode provocar efeitos nocivos, resultando num dano tecidual significativo ou mesmo provocar a morte (5).

A alergia pode ser mediada por anticorpos ou por células mas, na maioria dos casos, o anticorpo característico responsável por uma reacção alérgica pertence ao isotipo IgE (hipersensibilidade de tipo I). Na alergia não mediada por IgE podem intervir mecanismos diferentes como por exemplo IgG

(hipersensibilidade de tipo II), complexos imunes (hipersensibilidade de tipo III), ou por células T efectoras (hipersensibilidade de tipo IV). Para ocorrer uma reacção de hipersensibilidade de tipo I é necessário que no primeiro contacto com o alergénio tenha havido produção de IgE (7). O indivíduo torna-se assim sensibilizado ao alergénio. Após a resposta primária ter terminado e o alergénio ter sido eliminado pelas vias normais, todas as moléculas de IgE específicas para o alergénio que não o encontraram ligam-se aos receptores nos mastócitos e basófilos (2).

Numa subsequente exposição frente ao mesmo alergénio as IgE específicas para esse alergénio presas aos receptores de membrana dos mastócitos e basófilos ligam-se ao alergénio, activando a libertação de histamina e heparina contida nos grânulos e produção de outros mediadores, entre os quais leucotrienos, citocinas e quimiocinas. Estes produtos exercem os efeitos característicos da reacção alérgica (8,9) nomeadamente o aumento da permeabilidade vascular, activação do endotélio, contracção do músculo liso, constricção das vias aéreas, secreção de muco, atracção de leucócitos circulantes ao local da activação dos mastócitos, produção e activação de eosinófilos e plaquetas (2).

A IgE difere das outras imunoglobulinas, pois apresenta um domínio extra na região constante e locais de ligação para os receptores FcεRI que se encontram nos mastócitos e nos basófilos e receptores FcεRII que se encontram nos eosinófilos (9). Representa a principal classe de anticorpo na pele e superfícies submucosas do tracto gastrointestinal, urogenital e respiratório. Em condições normais a sua concentração no sangue é baixa quando comparada com as outras imunoglobulinas pois apenas é produzida em resposta a um grupo selectivo de antigénios (alergénios e parasitas) (9).

Todavia também podem ocorrer valores elevados de IgE em outras situações como doenças auto imunes, doença de Hodgkin, parasitoses, mieloma IgE entre outras (10). Por outro lado existem pacientes com alergia de origem alimentar e inalante que apresentam níveis de IgE total dentro dos valores normais (3,11,12). A constituição genética dos indivíduos, o tipo e a quantidade do alergénio e o modo como se apresenta influenciam o nível de resposta de IgE (5,9).

Normalmente a metodologia laboratorial usada para o rastreio de uma alergia inicia-se pela quantificação da IgE total e, no caso de valores elevados, testes de rastreio para pesquisa de anticorpos IgE específicos a alergénios inalantes e alimentares comuns.

Tendo-se verificado que o estudo alergológico laboratorial de indivíduos com suspeita alérgica é feito muitas vezes sem uma abordagem adequada e visto ser uma patologia que afecta parte significativa da população, pretendeu-se com este estudo sugerir uma metodologia laboratorial de rastreio alergológico adequada e aumentar a rapidez de diagnóstico.

MATERIAL E MÉTODOS

População de estudo

O estudo incidiu sobre indivíduos do distrito de Viseu de ambos os sexos e com idades compreendidas entre os 0 e os 14 anos (inclusive), utentes da Consulta do Hospital de São Teotónio de Viseu SA (HSTV) aos quais, durante o decurso da sua investigação alergológica foram efectuadas análises de IgE total, Phadiotop (teste de rastreio para pesquisa de anticorpos IgE específicos para misturas de alergénios inalantes) e Fx5E (teste de rastreio para pesquisa de anticorpos IgE específicos para misturas de alergénios alimentares), durante os anos de 2002 e 2003 e nos primeiros cinco meses de 2004. A avaliação laboratorial foi feita no Laboratório de Bioquímica e no Laboratório de Imunologia do Serviço de Patologia Clínica do HSTV.

Metodologia

As amostras de sangue foram colhidas em tubo sem preparação, para obtenção de soro onde foram processadas as seguintes análises:

IgE total - Doseamento por ensaio tipo sandwich de duas etapas utilizando tecnologia quimioluminescente directa, o aparelho utilizado foi o Advia Centaur® Bayer Diagnostics (EUA) assim como os calibradores e controlos utilizados.

Segundo Heil W, *et al* (13), consideraram-se os valores de referência da IgE total de acordo com a Tabela I.

Phadiotop e Fx5E - Doseamento por imunoensaio tipo *sandwich* pelo método Pharmacia Unicap FEIA System, o aparelho utilizado foi o UniCAP 100® Pharmacia Diagnostics (Suécia) assim como os controlos e calibradores utilizados.

Tratamento estatístico

A análise estatística dos resultados foi feita através da determinação de medidas de tendência central e de dispersão.

Tabela I. Valores de referência da IgE total.

Neonatos	<1,5 UI/ml
1 ano	<15 UI/ml
2-5 anos	< 60 UI/ml
6-9 anos	< 90 UI/ml
10-15 anos	< 200 UI/ml

RESULTADOS

Dos 362 indivíduos a quem foi doseada a IgE total sérica, e efectuados os testes Phadiotop e Fx5E, apenas foram seleccionados aqueles que apresentavam Phadiotop positivo, ou Fx5E positivo ou ambos positivos.

Durante o período de estudo (Janeiro de 2002 e Abril de 2004) foram estudados 158 indivíduos, com idade compreendida entre 0 e 14 anos (idade média 6,23±3,70 anos), que apresentavam Phadiotop positivo, ou Fx5E positivo ou ambos positivos; sendo 55 (34,8%) do sexo feminino e 103 (65,2%) do sexo masculino.

De entre o total de indivíduos, 89 (56,3%) apresentaram Phadiotop positivo, 26 (16,5%) o FX5E positivo e 43 (27,2%) revelaram simultaneamente o Phadiotop e o FX5E positivos (Tabela II).

Tabela II - Caracterização da população estudada.

Sexo	
Feminino, n (%)	55 (34,8)
Masculino, n (%)	103 (65,2)
Idade, anos (média±SD)	6,23±3,70
Tipo de Alergia	
Inalante (Phadiotop), n (%)	89 (56,3)
Alimentar (Fx5E), n (%)	26 (16,5)
Phadiotop e Fx5E, n (%)	43 (27,2)

Dos 158 indivíduos com testes de rastreio de alergia positivos, 52 (32,9%) mostraram níveis séricos de IgE total dentro dos intervalos de referência, e em 106 (67,1%) o nível de IgE total revelou-se elevado.

Dos 89 indivíduos com Phadiotop positivo, 32 (35,96%) apresentaram concentração sérica de IgE total normal, e 57 (64,04%) revelaram concentração sérica de IgE total elevada. Dos 26 indivíduos com FX5E positivo, 15 (57,69%) revelaram concentração sérica de IgE total normal, e 11 (42,30%) mostraram concentração sérica IgE total elevada. Dos 43 indivíduos com ambos os testes Phadiotop e FX5E positivos, 5 (11,62%) mostraram concentração sérica IgE total normal, e 38 (88,37%) elevada (Tabela III).

Tabela III - Nível sérico de IgE total de acordo com o tipo de alergia.

	Normal n (%)	Elevado n (%)
Phadiotop	32 (35,96)	57 (64,04)
Fx5E	15 (57,69)	11 (42,30)
Phadiotop e Fx5E	5 (11,62)	38 (88,37)
Total	52 (32,9)	106 (67,1)

DISCUSSÃO

No nosso estudo verificou-se maior prevalência de sensibilização para alérgenos inalantes, eventualmente devido à média de idades do nosso estudo ser $6,23 \pm 3,70$ anos, faixa etária em que está descrito um predomínio de sensibilização a alérgenos inalantes.

Estes valores estão de acordo com a literatura e com vários estudos (3,11) que referem modificação da doença alérgica no decurso do crescimento, em que as manifestações gastrointestinais e dermatológicas tendem a desaparecer enquanto as respiratórias se tornam mais frequentes à medida que aumenta a idade, processo denominado por marcha alérgica.

Entre os 158 indivíduos com testes de rastreio de alergia positivos, 32,9% apresentavam nível sérico de IgE total dentro do intervalo de referência. Nos indivíduos com sensibilização a alérgenos inalantes 35,96% tinham IgE total normal, enquanto que indivíduos com sensibilização a alérgenos alimentares mostraram grande percentagem (57,69%) de concentração sérica de IgE total normal.

Os valores encontrados podem resultar do nível de resposta de IgE poder ser influenciado pela constituição genética individual e pelo tipo, quantidade e modo de apresentação do alérgeno (5,9).

Nos indivíduos com os dois tipos de sensibilização simultaneamente 11,62% mostraram IgE total normal, e 88,37% IgE total elevada. Verificou-se neste caso, existir uma maior percentagem de IgE total elevada, explicável pela presença de mais de um tipo de alérgeno induzindo maior estímulo e, conseqüentemente, maior produção de IgE.

Vários estudos (14,16) com o objectivo de associar

a relação entre níveis de IgE específica inalante (Phadiotop) ou alimentar (FX5E) com a presença de doença respiratória alérgica ou doença alimentar alérgica respectivamente, concluíram ser importante a pesquisa de anticorpos específicos tipo IgE dada a correlação positiva entre a sua presença e doença alérgica.

O Phadiotop e o FX5E foram descritos em vários estudos como métodos de elevada sensibilidade e especificidade (11), revelando por isso grande valor diagnóstico.

O método laboratorial utilizado Pharmacia UniCAP FEIA (fluorescence enzyme immunoassay) System, comercializado pela Pharmacia é segundo vários autores, um método muito eficaz na detecção de alergias, já que utiliza uma fase sólida com elevada capacidade de ligação ao alérgeno, permitindo assim o despiste de mais doentes alérgicos comparativamente a outros métodos (11,15,17,18).

As doenças alérgicas representam um problema crescente nos países desenvolvidos, sendo por isso muito importante fazer um rastreio adequado.

Com os resultados deste estudo verifica-se que caso o diagnóstico de alergia assente apenas no valor da concentração sérica da IgE total, 32,9% dos doentes com sensibilização a alérgenos inalantes e alimentares comuns não seriam detectados.

Perante uma suspeita de alergia propõe-se que além da história clínica do doente, sejam efectuados numa primeira fase os testes de rastreio para pesquisa de anticorpos IgE específicos para misturas de alérgenos inalantes e alimentares comuns além da IgE total para que o maior número de alergias, quer inalantes quer alimentares sejam detectadas.

A IgE total é sobretudo útil na diferenciação de indivíduos atópicos e não atópicos, sendo também importante na diferenciação entre alergia, parasitoses e outras doenças infecciosas e imunológicas.

Com esta metodologia pretende-se uma melhor optimização dos métodos laboratoriais e aumentar assim a rapidez de diagnóstico.

REFERÊNCIAS

1. Manual de Imunoalergologia, UniCAP Pharmacia Diagnostics; 2003.
2. Parham P. O Sistema Imune. Porto Alegre (Brasil): Artemed editora; 2001.
3. Host A, Andrae S, Charkin S, Diaz-Vázquez C, Dreborg S, Eigenmann PA, *et al.* Allergy testing in children: why, who, when and how? *Allergy* 2003; **58**: 559-69.
4. Sacher RA, McPherson RA. Interpretação clínica dos

- exames laboratoriais. 1ª Edição brasileira (Brasil): Editora Manole; 2002.
5. Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA. Kuby Imunologia. 4ª Edição Rio de Janeiro (Brasil): Editora Revinter; 2002.
 6. Johansson SGO, Hourihane JO'B, Bousquet J, Brujnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, *et al.* A revised nomenclature for allergy, An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy* 2001; **56**: 813-14.
 7. Sharon J. Imunologia Básica. 1ª Edição Rio de Janeiro (Brasil): Editora Guanabara Koogan; 2000.
 8. Junqueira LC, Carneiro J. Histologia Básica. 9ª Edição Rio de Janeiro (Brasil): Editora Guanabara Koogan; 1999.
 9. Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology. 6ª Edição (UK): Editora Mosby; 2001.
 10. Dieusaert P. Guide pratique les analyses medicales. 2ª Edição Paris (França): Editora Maloine; 1996.
 11. Ramalho H, Labandeiro L, Cerqueira R, Preto EM, Braga C, Moura J. Alergia na idade pediátrica: Avaliação dos métodos de rastreio laboratorial. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia* 2001; **8**: 209-14.
 12. Kerkhof M, Dubois AEJ, Postma DS, Schouten JP, Monchy JGR. Role and interpretation of total serum IgE measurements in the diagnosis of allergic airway disease in adults. *Allergy* 2003; **58**: 905.
 13. Heil W, Koberstein R, Zawta B. Reference Ranges for Adult and Children, Pre-Analytical Considerations. Roche Diagnostics; 2002.
 14. Dolen WK. IgE antibody in the serum – detection and diagnostic significance. *Allergy* 2003; **58**: 717-723.
 15. Yman L. Standardization of in vitro methods. *Allergy* 2001; **56**: 70.
 16. Martínez TB, García-Ara C, Díaz-Pena JM, Muñoz FM, Sánchez GG, Esteban MM. Validity of specific IgE antibodies in children with egg allergy. *Clin Exp Allergy* 2001; **31**: 1464-9.
 17. Cramer R, Lidholm J, Stuber D, Blaser K, Menz G. Automated specific IgE assay recombinant allergens: evaluation of the recombinant *Aspergillus fumigatus* allergen I in the Pharmacia Cap System. *Clin Exp Allergy* 1996; **26**: 1411-9.
 18. Ricci G, Capelli M, Miniero R, Menna G, Zannarini L, Dillon P, *et al.* A comparison of different allergometric tests, skin prick test, Pharmacia UniCAP and ADVIA Centaur, for diagnosis of allergic diseases in children. *Allergy* 2003; **58**: 38.

Infecção do Tracto Urinário na Criança

*MATILDE DE OLIVEIRA¹

¹*Serviço de Patologia Clínica do Hospital Senhora da Oliveira, Guimarães*

RESUMO

Com o objectivo de avaliar a pertinência dos pedidos de exames bacteriológicos de urina, e determinar a sensibilidade e especificidade do exame sumário de urina e do sedimento urinário na detecção da infecção do tracto urinário (ITU) em idades pediátricas, foram analisados todos os exames bacteriológicos de urina durante o período de um ano.

Deram entrada no Serviço 1235 exames bacteriológicos de urina durante este período. Da amostra em estudo 37,3 % eram do sexo masculino e 62,7 % eram do sexo feminino, com uma média de idade de 3,52 +/- 2,99 anos. Foi encontrada positividade no exame cultural em 343 pedidos de exames bacteriológicos de urina (27,8 %). Nos exames bacteriológicos positivos, foram identificados 15 estirpes diferentes sendo a mais frequente *E. coli* (69,5%), seguindo-se *Proteus mirabilis* (12,5%) e *Klebsiella pneumoniae* (6,5%). O exame sumário de urina foi efectuado em 896 dos pedidos de exame bacteriológico (896/1122). Nestes, encontramos positividade na análise sumária de urina, para leucócitos, nitritos ou sedimento urinário com leucócitos superior a 5 por campo, em 31,3 % dos casos (280/896). A sensibilidade do exame sumário e sedimento de urina foi de 68,4 % e a especificidade foi de 84,9 %. Com um valor preditivo positivo de 66,4 % e negativo de 86,0 %. Este estudo reflecte um esforço que os serviços devem fazer no sentido de analisar e reflectir sobre as suas práticas, com o objectivo de aumentar as suas performances e dar uma resposta mais eficaz em termos de diagnóstico e consequentemente melhorar o serviço prestado.

Palavras-chave: Infecção do tracto urinário • Exames bacteriológicos • *E. coli* • Exame sumário de urina.

Aceite para publicação: 9 de Novembro de 2004

*Correspondência:

Serviço de Patologia Clínica
Hospital Senhora da Oliveira – Guimarães
Email: matilde-oliveira@clix.pt

ABSTRACT

To evaluate the possibility of urinary tract infection in paediatric ages, laboratory analysis of the urine are frequently required. To evaluate the adequacy to the proposed diagnosis of the requested urine bacteriological exams, determination of the sensibility and specificity of urine summary exam and the analysis of urinary sediment, we investigated the results from all required urine tests during a period of one year in our hospital laboratory.

During this period, 1235 urine bacteriological exams were required. From the specimen in study 37,3% and 62,7% were from male and female children, respectively, with a age average of 3,52 ± 2,99 years. From our sample, 343 (27,8%) urines were found to be positive for bacteriologic culture. In such exams 15 different strains were identified, being the most frequent *E. coli* (69,5%) followed by *Proteus mirabilis* (12,5%) and *Klebsiella pneumoniae* (6,5%). The summary exam of urine was made in 896 out of the 1122 requested for bacteriological exams. From these analyses, 280 (31,3%) samples gave positive results for the strip test, nitrites or urinary sediments with more than 5 leukocyte per field. In our study the sensibility and specificity of the summary exam and urine sediment for the diagnosis of urinary tract infection, was of 68%, 45% and 84, 9%, respectively. The predictive positive value was 66,4% and the negative was 86,0%. These results reflect the great effort that the services should do analysing and judging their practices in the future to improve their performance and give effective answers in terms of diagnostics.

Key-words: Urinary tract infection • Bacteriological exams • *E.coli* • Urine summary exam.

Accepted for publication: 9 November 2004

INTRODUÇÃO

No corpo humano, o tracto urinário é normalmente estéril excepto na uretra terminal e como tal a multiplicação de microrganismos e invasão dos tecidos pode condicionar o aparecimento de uma infecção do tracto urinário (ITU) (1-4). Por definição, ITU é a presença de microorganismos numa urina normalmente estéril, sendo frequentemente acompanhada por uma resposta inflamatória aguda. Do ponto de vista da localização anatómica, a ITU pode ser dividida em dois grupos: as infecções do tracto urinário inferior (cistite), e do tracto superior (pielonefrite).

A infecção do tracto urinário inferior, designada por alguns autores como ITU não complicada, é habitualmente a que está relacionada com indivíduos previamente saudáveis, isto é, sem anomalias no tracto urinário. É mais frequente, nas mulheres e o agente etiológico no ambulatório e a nível hospitalar é *Escherichia coli* (5), encontrada em mais de 80% dos casos. A manifestação clínica habitual é a cistite, que é caracterizada por disúria (micção dolorosa), polaquiúria (micção frequente) e tenesmo (desejo continuo em urinar). Na maioria dos doentes estes sintomas são acompanhados por leucocitúria e bacteriúria (6).

A infecção urinária do tracto urinário superior, designada também por ITU complicada, está ligada sobretudo a doentes com factores predisponentes, nomeadamente imunodepressão ou anomalias no tracto urinário. Estas anomalias podem estar relacionadas com defeitos anatómicos, obstrução do tracto urinário ou defeitos funcionais, tais como bexiga neurogénica e refluxo vesicouretral (5). Esta infecção cursa em pielonefrite aguda que corresponde a invasão bacteriana com consequente inflamação do parênquima renal. Neste caso as manifestações clínicas são lombalgias, calafrios e febre superior a 38,5°C (7). Na criança pode apresentar-se com sintomas diferentes, como: manifestações gastrointestinais, náuseas e vómitos (8).

A ITU pode também ser assintomática, podendo ocorrer desta forma em 2% das raparigas prépuberes (9). Esta situação tende a curar espontaneamente. Em crianças com idade inferior aos cinco anos, esta situação deverá ser objecto de terapêutica. Com efeito, num trabalho em que foi realizado um seguimento a longo prazo, demonstrou-se que 17% de crianças com

menos de dois anos de idade desenvolveram uma ITU das vias altas e 46% vieram a apresentar um refluxo vesicouretral (RVU) (10).

A contaminação do tracto urinário pode fazer-se por duas vias: a ascendente, a partir da flora fecal e uretral; e a hematogénea em que a bactéria contamina o sangue e infecta secundariamente o aparelho urinário (5,6,11). Esta última via de contaminação é comum no recém-nascido e no lactente dada a frequência, nessas idades, de bactériemias e sepsis. Os recém-nascidos com bactériemia significativa têm também bacteriúria, assim a ITU integra-se num contexto de septicemia. A infecção por esta via ocorre geralmente a partir de bactérias do intestino (12).

De acordo com a literatura, a ITU é a infecção bacteriana mais comum, atingindo cerca de 10% dos indivíduos (6). A sua prevalência depende da idade e do sexo. Durante o primeiro ano de vida a prevalência é superior nos indivíduos do sexo masculino, no entanto passado este primeiro ano, a prevalência é significativamente superior nos indivíduos do sexo feminino, aumentando progressivamente com a idade, atingindo os 2% aos cinco anos de idade e os 5% após os dez anos de idade (6,10).

É unanime que a ITU representa um importante problema pediátrico e é considerada a segunda causa de infecção bacteriana na criança (8). Esta patologia implica uma elevada morbidade e pode variar da bacteriúria assintomática à pielonefrite aguda. As formas de apresentação clínica na criança variam com a idade, sexo, mas também com a associação de alterações anatómicas do tracto urinário e com a localização da infecção. O seu diagnóstico deverá ser ponderado em todas as crianças com febre de causa inexplicável, sobretudo antes dos dois anos de idade (13). Efectivamente, a prevalência de ITU é elevada em lactentes e crianças com idades compreendidas entre os dois meses e dois anos, a sua apresentação clínica é inespecífica e há risco de lesão renal (14). No entanto, nas crianças com mais de dois anos de idade os sintomas são mais referidos e existem factores predisponentes de lesão renal. A associação de anomalias mal formativas ou funcionais das vias urinárias foram encontradas em 40% a 50% dos lactentes com ITU, onde 80% apresentavam refluxo vesicouretral (15-18).

O RVU, isto é, o refluxo retrógrado anormal da urina da bexiga para a uretere ou da uretere para o rim (19), é devido a incompetência do mecanismo valvular da junção uretero-vesical que está presente em 30% a 50% das crianças. Este, pode ser um veículo condutor de bactérias para o parênquima renal sendo determinante na patogénese de cicatriz renal da pielonefrite crónica, sendo a causa mais frequente de hipertensão arterial e insuficiência renal na criança e no adulto jovem (20,21).

Na década de 60, os trabalhos de Hodson demonstraram que para haver formação de uma cicatriz renal é necessário que esteja presente o RVU e a ITU (22,23). Assim, através do estudo da infecção urinária é possível identificar, precocemente, crianças portadoras de uropatias mal formativas e prevenir lesões renais cujas consequências podem determinar hipertensão arterial e insuficiência renal crónica ou ambas (8).

O agente etiológico mais frequente na ITU é *E. coli*. Outras bactérias frequentemente isoladas são *Klebsiella spp*, *Enterobacteriaceae* e *Staphylococcus saprofiticus*. Nas infecções recorrentes aumenta a frequência de *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* e *Enterobacter spp* (5,6,22,23). Relativamente às crianças, *E. coli* é também o agente etiológico mais frequentemente encontrado atingindo 55% dos rapazes e 70% das raparigas. *Proteus* aparece em 9% e *Klebsiella* e *Staphylococcus saprofiticus* em 5% das crianças (10,24). A razão pela qual *E. coli* é o agente etiológico mais frequente, é explicada pelo facto desta possuir estruturas situadas à sua superfície (adesinas ou fimbrias) que facilitam a sua interacção com os receptores localizados sobre as células uroepiteliais conferindo-lhe a capacidade em colonizar o tracto urinário, invadir e danificar o tecido renal (25,26).

O objectivo deste trabalho é o de avaliar a pertinência dos pedidos de exames bacteriológicos de urina e determinar a sensibilidade e especificidade do exame sumário de urina e sedimento urinário na detecção da ITU em idades pediátricas, no serviço de Patologia Clínica do Hospital Senhora da Oliveira – Guimarães.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram incluídos, neste trabalho, todos os exames bacteriológicos de urina que deram entrada no serviço de Patologia Clínica,

oriundos dos Serviços de Pediatria (Internamento, Serviço de Urgência e Consulta Externa) do Hospital Senhora da Oliveira – Guimarães (HSO), durante o período de um ano. Em todos os casos foi registado sistematicamente: idade, sexo, proveniência, resultado do exame cultural, resultado da análise sumária de urina e sedimento urinário, quando pedidos, e a identificação da estirpe bacteriana.

Métodos de colheitas

O tipo de colheita de urina para exame bacteriológico dependeu da idade e do estado de saúde das crianças. Em crianças com idade superior aos três anos, com controlo de esfíncteres, foi usado o método designado por jacto médio. Nas crianças com idade inferior aos três anos, o método utilizado foi o de colheita em saco colector. A punção supra púbica foi usada, em determinadas situações, com o objectivo de confirmar resultados positivos ou então em recém nascidos com quadro clínico séptico, para um diagnóstico mais rápido.

Exame cultural

As amostras de urinas foram semeadas em meio CLED (Cystine – Lactose – Electrolyte – Deficient) quando a urina dava entrada no serviço de Patologia Clínica. A lâmina de cultura URICULT® (bioMérieux Vitek, inc.) – lâmina especial em plástico com duas faces cobertas por uma camada de meio de cultura, face 1 (meio CLED) e face 2 (gelose MacConkey) – também foi utilizada na cultura de urina, e neste caso a urina era semeada, segundo as instruções do fabricante, pelos serviços de origem. Ambos os meios foram acondicionados numa estufa de 37°C durante 24 horas, o exame bacteriológico de urina não inclui a pesquisa de anaeróbios.

A interpretação dos resultados de cultivo, quando se utilizou a lâmina de cultura, foi efectuada consoante as instruções do fabricante. Nas sementeiras em meio CLED, foram considerados exames culturais negativos, quando o valor de unidades formadoras de colónias (UFC) era inferior a 1000 por ml. Foi considerada contaminação quando as UFC eram igual 1000 por ml ou quando se observava o crescimento de duas ou mais tipo de colónias. Quando o crescimento era superior a 10000 UFC/ml, o exame cultural foi considerado positivo.

Identificação bacteriana

As colónias puras dos exames culturais considerados positivos, foram processadas no aparelho automático de identificação Vitek® (bioMérieux Vitek, inc.). Quando, pelo método anterior se obtinham identificações duvidosas ou quando a cultura era antiga, foram utilizadas as galerias API® (bioMérieux Vitek, inc.).

Análise sumária de urina e sedimento urinário

A análise sumária de urina foi efectuada usando tira reagente (Multistix 10SG ® Bayer) que incluiu: glicose, bilirrubina, corpos cetónicos, densidade, sangue, pH, proteínas, urobilinogénio, nitritos e leucócitos. As tiras foram lidas no autoanalisador do sistema Clinitek ® (Bayer Portugal, S.A.). A urina para exame de sedimento urinário foi centrifugada 5 minutos a 2000 rotações por minuto e, em seguida, o sedimento foi visualizado ao microscópio, contando-se o número de leucócitos, eritrócitos, células epiteliais, cilindros e eventualmente a presença de outros elementos como: bactérias, fungos e cristais.

Foram considerados elementos sugestivos de ITU quando se encontrou positividade em pelo menos um dos seguintes parâmetros: nitritos, leucocitúria e a observação de 5 ou mais leucócitos por campo.

RESULTADOS

Foram observadas 18455 crianças no HSO. Deram entrada no Serviço de Patologia Clínica 1235 exames bacteriológicos de urina destas, 569 eram provenientes do Internamento, 374 do Serviço de Urgência e 292 da Consulta Externa de Pediatria. Da amostra em estudo 37,3% eram do sexo masculino e 62,7% eram do sexo feminino, com uma média de idade 3,52+/-2,99 anos. Foi encontrada positividade no exame cultural em 343 pedidos de exames bacteriológicos de urina (27,8%), 180 dos quais provenientes do Internamento, 110 do Serviço de Urgência e 53 da Consulta Externa. A percentagem de exames contaminados foi de 9,2% e a percentagem de resultados negativos foi de 63,0%. A distribuição por serviço de origem está representada na figura 1.

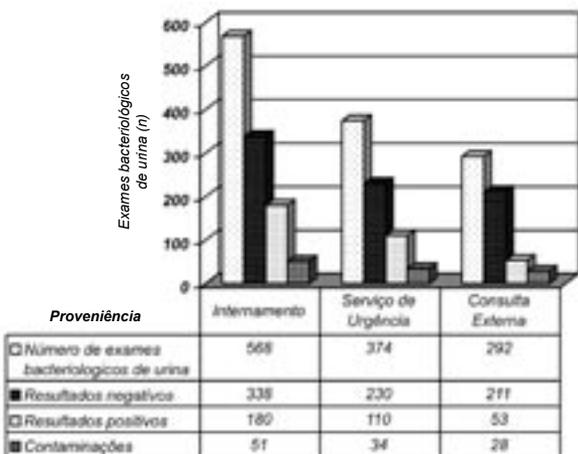


Figura 1. Distribuição por serviço de origem do resultado do exame cultural.

Na totalidade dos exames culturais positivos, 41,7% eram provenientes de crianças do sexo masculino e 58,3% de crianças do sexo feminino. Verificou-se positividade para o exame cultural em 35,0% das crianças do sexo masculino, com idade inferior aos dois anos e 6,7% com idade superior aos dois anos. Nas crianças do sexo feminino foi encontrada positividade no exame cultural, em 26,0% daquelas que apresentavam idade inferior aos dois anos e 32,3% daquelas que apresentavam idade superior aos dois anos (Tabela I).

Tabela I - Distribuição dos exames culturais positivos por idade, sexo e serviço de origem.

Serviço / Sexo	Idade	
	<2 Anos	>2 Anos
Consulta Externa		
Masculino	4,7%	0,9%
Feminino	2,3%	7,6%
Internamento		
Masculino	19,0%	4,0%
Feminino	14,0%	15,5%
Urgência		
Masculino	11,4%	1,7%
Feminino	9,6%	9,3%
Total		
Masculino	35,0%	6,7%
Feminino	26,0%	32,3%

Nos exames bacteriológicos positivos, foram identificados 15 estirpes diferentes sendo a mais frequente E. coli que foi encontrada em 69,5% das amostras com exame cultural positivo, seguindo-se Proteus mirabilis em 12,5% e Klebsiella pneumoniae em 6,5%. Outras estirpes foram encontradas em 11,5% das amostras com exame cultural positivo. A distribuição, por sexo, de todas as estirpes identificadas é apresentada na Tabela II.

O exame sumário de urina foi efectuada em 896 dos pedidos de exame bacteriológico com resultado positivo ou negativo (896/1122). Nestes, encontramos positividade na tira, para leucócitos, nitritos ou sedimento urinário com leucócitos superior a 5 por campo, em 31,3 % dos casos (280/896). A positividade foi encontrada em 68,4 % dos exames culturais positivos e em 15,0 % dos exames culturais negativos. A sensibilidade do exame sumário e sedimento de urina foi de 68,4 % e a especificidade foi de 84,1 %. Com um valor preditivo positivo de 66,4 % e negativo de 86,0 % (Tabela III).

Tabela II. Distribuição das estirpes identificadas por sexo.

Estirpes	Sexo masculino		Sexo feminino		Total	
	n	%	n	%	n	%
<i>Escherichia coli</i>	88	61,1	156	75,4	244	69,5
<i>Proteus mirabilis</i>	36	25,0	8	3,9	44	12,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	4,9	16	7,7	23	6,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	2,0	5	2,4	8	2,2
<i>Morganella morganii</i>	4	2,8	3	1,4	7	2,0
<i>Salmonella spp</i>	0	0	5	2,4	5	1,4
<i>Enterobacter faecalis</i>	3	2,1	1	0,5	4	1,1
<i>Staphylococcus</i>	1	0,7	2	1,0	3	0,9
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	3	1,4	3	0,9
<i>Fungos</i>	0	0	3	1,4	3	0,9
<i>Citrobacter spp</i>	1	0,7	1	0,5	2	0,6
<i>Serratia spp</i>	0	0	2	1,0	2	0,6
<i>Proteus vulgaris</i>	0	0	1	0,5	1	0,3
<i>Enterococcus spp</i>	1	0,7	0	0	1	0,3
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	0	1	0,5	1	0,3

Tabela III - Relação entre os resultados do exame bacteriológico e o exame sumário da urina ou sedimento urinário positivo.

	Ex. bacteriológico positivo	Ex. bacteriológico negativo	Total
Ex. sumário ou sedimento de urina positivo	186	94	280
Ex. sumário ou sedimento de urina negativo	86	530	616
Total	272	624	896

DISCUSSÃO

AITU é muitas vezes um indicador de anomalias mal formativas ou funcionais das vias urinárias sobretudo em lactentes, em que está presente em 40 a 50% dos casos, nesse sentido o seu diagnóstico é importante em crianças com sintomatologia inespecífica e febres de origem indefinida (8).

Neste estudo, encontramos uma percentagem relativamente baixa de exames culturais positivos (27,8%) na totalidade dos pedidos efectuados no ano 2000, no entanto temos alguma dificuldade em compará-los com o de outros serviços, dada a inexistência de dados publicados. A distribuição de exames culturais positivos foi significativamente superior nas amostras provenientes do Internamento (31,6%) e do Serviço de Urgência (29,4%). Isto reflecte a incidência de doentes com esta patologia nestes serviços. Por um lado o Serviço de Urgência é o local onde recorrem os doentes aquando do aparecimento da primeira sintomatologia e por outro o Internamento é o local para onde vão os

doentes para vigilância, diagnóstico e tratamento, das situações mais graves. A baixa percentagem (18,1%) de exames positivos encontrados na Consulta Externa poderá ter origem no facto de uma percentagem elevada dos exames pedidos neste serviço serem de controlo pós tratamento.

Encontramos uma percentagem de 9,2% de amostras contaminadas. A sua distribuição pelos três serviços é semelhante: 9,0% no Internamento, 9,1% no Serviço de Urgência e 9,6% na Consulta Externa. Estas percentagens traduzem a dificuldade em obter amostras assépticas, em saco colector, em crianças com idade inferior aos dois anos. Esta percentagem é significativamente inferior à percentagem de falsos positivos descritos na literatura, que se situa na ordem dos 30% (23,18). Esta contaminação é devida na maioria dos casos à flora do perineo. Nestes casos, o resultado só é considerado positivo, quando confirmado com uma segunda colheita em saco colector ou por outra técnica de colheita, sendo a mais utilizada a punção supra-púbica. Por outro lado, um exame cultural proveniente de uma colheita em saco colector negativo exclui a ITU (18).

No presente estudo foi encontrado uma maior percentagem de ITU nas crianças com idades inferiores aos dois anos (61,0%). Em relação ao sexo, nas idades inferiores aos dois anos há uma grande incidência de ITU nas crianças do sexo masculino (35,0%) quando para as crianças do sexo feminino, uma percentagem semelhante é encontrada nas idades superiores aos dois anos (32,3%).

O exame bacteriológico demonstrou a presença de *E. coli* em 69,5% das crianças confirmando, os dados referidos na generalidade da literatura, que refere esta estirpe como o agente etiológico mais frequente. Relativamente à distribuição por sexo encontramos resultados também sobreponíveis aos descritos na literatura, sendo *E. coli* o agente mais frequentemente encontrado nas crianças do sexo feminino e *E. coli* e *Proteus* nas do sexo masculino (27).

Relativamente à sensibilidade e especificidade da análise sumária de urina e sedimento urinário, de referir que encontramos uma sensibilidade de 68,4% em detectar infecção urinária, que é sobreponível ao descrita na literatura. A especificidade encontrada, por outro lado, embora seja inferior à descrita na literatura, é um bom parâmetro de exclusão de ITU, dado que tem capacidade de detectar 84,9% dos verdadeiros negativos. A probabilidade de existir ITU, com análise sumária de urina e sedimento urinário alterados, ou seja o valor preditivo positivo encontrado foi de 66,4%, por outro lado, a capacidade de excluir ITU se a análise sumária de urina e sedimento urinário forem negativos, ou seja o valor preditivo negativo, foi de 86,0%.

Assim, para excluir o diagnóstico de infecção urinária, os pedidos de exame sumário de urina e sedimento urinário, no serviço de Urgência pediátrica, assumem toda a pertinência como primeiros exames, visto que permitam identificar correctamente as crianças sem patologias.

Este estudo reflecte um esforço que os serviços devem fazer no sentido de analisar melhor os resultados dos exames pedidos afim de excluir o diagnóstico de ITU para minimizar os internamentos e tratamentos inadequados e dar uma resposta mais eficaz em termos de diagnóstico e consequentemente melhorar o serviço prestado.

AGRADECIMENTOS

Os meus sinceros agradecimentos a Dra. Ana Paula Mota Vieira, responsável pelo sector de Microbiologia do Serviço de Patologia Clínica do Hospital Senhora da Oliveira, pela sua ajuda e colaboração na elaboração deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- Glass J. Diagnosis of urinary tract infection. In: *Clinical Pediatric Nephrology*, Wright, Bristol 1986:350-359.
- Kass EH. Bacteriuria and the diagnosis of infection of the urinary tract. *Arch. Int. Med.* 1957; **100**:709.
- Pryless CV. The diagnosis of urinary tract infection. *Pediatrics*, 1960; **26**:441
- Smellie JM, Normand ICS. Urinary infections in children. *Arch. Dis. Child.* 1985; **61**:895-905.
- Lopes JLG, Romero JV. Infecciones del tracto urinario. In: Rafael R. Anglada, eds. *Microbiologia Sanitaria y Clinica*. Madrid: 1997; 29:626-638.
- Garcia LS, Procop GW, Roberts GD, Thomson RB. Infections of the urinary tract. In: Betty A Forbes, Daniel F. Sahm, Alice S. Weissfeld, eds. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 1998; Part 3, chap 25: 350-362.
- Hoberman A, Chao HP, Keller DM, Hickey R, Davis HW, Ellis D. Prevalence of urinary tract infection in febrile infants. *J. Pediatr.* 1993; **123**:17-23.
- Jardim H, Santos NT. Refluxo Vesicoureteral e nefropatia de refluxo na criança. *Arquivos de medicina* 1991; **4** (suppl 5): 1-15.
- Feld LG. Urinary tract infections in infants and children. *Pediatr. Rev.* 1989; **11**:17-23.
- Ecija JL. Protocolo de diagnóstico y tratamiento de la infección urinaria en la infancia. *Pediatr. Rev.* 1985; **6**:72-73.
- Schalger TA. Urinary tract infection in children younger than 5 years of age. *Paediatr. Drugs* 2001; **3**:219-227.
- Winberg J. Clinical aspects of urinary tract infection. In: Malcolm Holliday, Martin Barratt, Robert Vernier, eds. *Pediatric Nephrology*, 2nd ed., Baltimore: 1987.
- Roberts K. Urinary tract infection in infants with unexplained fever: a collaborative study. *Pediatr.* 1983; **103**:864-867.
- American Academy of Pediatrics. Committee on Quality Improvement. Subcommittee on Urinary Tract Infection. *Pediatrics* 1999; **103**:843-852.
- Wettergren B, Jodal U, Jonasson G. Epidemiology of bacteriuria during the first year of life. *Acta Pediatr. Scand.* 1985; **74**:925-933.
- González R. Infecciones urinarias. In: Nelson W, eds. *Tratado de Pediatría*, 3.ª ed. Madrid: Mc Graw Hill Interamericana; 1997: p.1904-1909.
- Castello F. Reflujo Vésico-ureteral del primer año de vida. *An. Esp. Pediatr.* 1982; **26**:9-15.
- Clarridge JE, Johnson JR, Pezzlo MF. Laboratory Diagnosis of Urinary Tract infections. *Cumitech* 2B 1998; 2-14.
- Goldraich N. Vesicoretic reflux and renal scarring. In: Malcom Holliday, Martin Barratt, Robert Vernier, eds. *Pediatric Nephrology*, 2nd ed. Baltimore: 1987; p.647-667.
- Smellie JM. Medical aspects of urinary tract infection in children. *J. R. Coll. Physic.* 1967; **1**:189-197.
- White RHR. Vesicoureteric reflux and renal scarring. *Arch. Dis. Child.* 1989; **64**:407-412.
- Winberg J, Andersen HJ, Bergstrom T. Epidemiology

- of symptomatic urinary tract infection in childhood. *Acta Paediatr. Scand.* 1974; (suppl. 1):1.
23. Bourdat M. Infection urinaire de l'enfant. Consultation du corpus médicale 1998.
 24. Capdevila EC, Ibáñez IM, Cid CM, Rodríguez ET, Roig MC, Quijano TA, *et al* Primera infección urinaria en el lactante sano. *An Esp. Paediatr.* 2001; **55**:310-314.
 25. Roberts JA. Experimental pyelonephritis in the monkey: pathophysiology of ureteral malfunction induced by bacteria. *J. Urol.* 1975; **13**:117.
 26. Winberg J. P-fimbriae: bacterial adhesion and pyelonephritis. *Arch. Dis. Child.* 1984; **59**:180
 27. Hellerstein S. Urinary tract infection from pediatrics. *eMedicine Journal.* 2000; **Vol 1**:12.

Burnout profissional - uma realidade no laboratório?

*SUSANA FERREIRA¹

¹*Serviço de Microbiologia do Hospital Geral de Sto António, Porto*

RESUMO

Com este trabalho pretendeu-se fazer um estudo sobre *burnout*, no contexto laboratorial do Hospital Geral de Sto. António – Porto. A amostra, constituída por 76 sujeitos é representativa de quatro classes profissionais: Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública, Farmacêuticos, Médicos e Auxiliares de Acção Médica. Aos sujeitos foi fornecido um questionário com o objectivo de determinar quais os principais stressores no laboratório, pensamentos associados e se as quatro classes profissionais são afectadas por eles, de forma idêntica. Os resultados indicam que as três principais fontes de stress no laboratório são: a sobrecarga de trabalho, a desorganização na distribuição das tarefas e a desorganização de tarefas profissionais nas equipas. Os resultados sugerem ainda que classes profissionais diferentes são afectadas por diferentes stressores e diferentes pensamentos associados a estes. Destacando-se os TACSP como a classe mais propensa a *burnout*. No geral, uma elevada capacidade de resolução de problemas está significativamente associada, não só a um baixo nível de percepção do stress, mas principalmente, a um elevado grau de satisfação profissional.

Palavras-chave: Stress • Coping • Burnout • Profissionais de Saúde • Laboratório

Aceite para publicação: 3 de Novembro de 2004

ABSTRACT

The intention of this work was to make a study about *burnout*, in laboratorial professional context of

*Correspondência:

Avenida António Domingues dos Santos, nº34, 1º Esq.
4460 Senhora da Hora
e-mail: su_riso69@hotmail.com

Hospital Geral de Sto. António – Porto. The sample, of 76 subjects, is representative of four professional classes: Clinic Analyses Technicians, Pharmaceutics, Pathologists and Medical Action Auxiliaries. A questionnaire was given to the subjects with the objective to determinate principal laboratory stressors, associated thinking and if they affected the four professional classes, in similar way. Results indicate that the three principal sources of stress in laboratory are overworking, distribution task disorganization and professional team tasks disorganization. Outlining the Clinic Analyses Technicians as the professional class showing more propensities to *burnout*. In general, a high capacity of problems resolution is highly associated, either a low level of stress perception, and essentially to an elevated level of professional satisfaction.

Key Words: Stress • Coping • Burnout • Health Professionals • Laboratory

Accepted for publication: 3 November 2004

INTRODUÇÃO

Palavras como frustração, insatisfação, depressão e ansiedade são cada vez mais usadas quando determinados profissionais pretendem descrever que se sentem sob stress nas suas actividades profissionais. Mas, apesar da utilização sistematicamente vulgarizada do termo, a natureza precisa do stress permanece ainda por definir (1).

Segundo Veloso (2), as primeiras pesquisas na área do stress foram feitas por Claude Bernard que demonstrou a importância do equilíbrio do indivíduo para fazer face aos acontecimentos da sua

vida quotidiana. Posteriormente, o endocrinologista Selye (3), não valorizou unicamente as condições que exercem pressão sobre o indivíduo, mas também verificou a resposta do organismo a esses factores, concluindo que, a resposta é sempre a mesma perante os agentes mais diversos e que as consequências do stress estão dependentes da intensidade e da persistência do agente agressor.

Desde então, vários autores continuaram a desenvolver o conceito, de forma a nele incluir a orientação fisiológica de Selye e a perspectiva psicológica de Lazarus (4,5).

Embora o stress tenha uma conotação negativa, não é necessariamente nocivo, pois também contém um potencial para resultados positivos. Selye (3) realçou que a total libertação do stress é a morte. O mais significativo não é tanto o que acontece às pessoas, mas a forma como interpretam os acontecimentos. Não é possível especificar em que circunstâncias se gera o stress dado que o que é angustiante e incómodo para uns, pode ser satisfatório e um desafio para outros (6).

Através da análise dos acontecimentos stressantes, Rodrigo (6) afirmou que o stress não é um estado momentâneo e transitório que aparece rapidamente e pode desaparecer com igual rapidez, mas antes, é um processo que requer um período de tempo, mais ou menos longo, para se instaurar. A duração deste período é determinada pelos recursos humanos e materiais, reais ou potenciais, que o indivíduo possui para enfrentá-lo adaptativamente ou com o menor prejuízo possível. Acerca dos recursos, Serra (5) concluiu que o stress envolve o coping, ou seja, a maneira como o indivíduo avalia o que pode ser feito acerca do acontecimento. Ambos estão interrelacionados e são processos dinâmicos, dado que o coping permite ajudar o indivíduo a gerir necessidades que são percebidas como causa de stress. Essa gestão pode ser conseguida pela modificação da situação ou do seu significado ou ainda lidando com os sintomas provocados. A forma como se põem em prática estas estratégias depende dos recursos individuais. Para além disso, o coping depende também de características individuais tais como: saúde, energia, crenças positivas e ainda, de factores ambientais e do suporte social. Os resultados de um estudo indicam que o stress sentido pelos profissionais de saúde pode ser aliviado ou prevenido pela melhoria

das condições de trabalho e pela implementação de acções de formação sobre estratégias de coping (7).

Segundo Dubreucq (12), as fontes de stress estão associadas a factores de dois tipos: os factores agudos de stress, que provocam grande perturbação, não só, porque geralmente promovem mudança, mas sobretudo porque são vividos como incontrolláveis e com forte sentimento de rejeição; e os factores de stress crónico, menos aparentes e de ocorrência diária. Uma revisão da literatura evidencia o contexto de trabalho como o factor mais stressante da idade adulta. Um estudo (6) realizado em profissionais de enfermagem, revela que 60% dos indivíduos estudados atribuem o grau mais elevado de stress à profissão, 31% à família e 21% à utilização dos tempos livres. Santos Lucas (8) afirma que um ambiente profissional estimulante, com um certo grau de expectativa e de incentivo, conduz a um aumento da satisfação pessoal e profissional. Frequentemente, tal resulta num aumento de produtividade (9). No entanto, factores como cargas horárias excessivas, trabalho por turnos ou tarefas com ritmos intensos que provocam o esforço físico e psicológico, exercidos em ambientes menos próprios, onde os profissionais são sujeitos a temperaturas extremas, ruído ou outro tipo de agressões, tendem a originar um cansaço cumulativo. Assim, de acordo com Carré (9), podemos concluir que quando as exigências provocam angústia e não permitem um repouso adequado surge o stress como risco profissional.

Situações de stress extremo deram origem a um conceito recente no estudo da satisfação profissional, o de Exaustão Ocupacional (*burnout*). Criado por Verninga e Spradley (10), pode ser definido como “uma condição psicológica debilitante provocada pelo stress profissional não aliviado, o que pode resultar em esgotamento das reservas de energia, diminuição da resistência à doença, aumento da insatisfação e diminuição do auto-conceito e aumento do absentismo e da ineficiência no trabalho”. Como afirmam, o *burnout* desenvolve-se segundo cinco fases: (1) A “lua de mel”- caracterizada por entusiasmo e satisfação; (2) A “escassez de combustível”- caracterizada por insatisfação e ineficiência; nesta fase o indivíduo sente-se cansado, não consegue dormir, refugia-se no tabaco, na bebida, drogas e pândegas; (3) Sintomas crónicos - caracterizada por exaustão

completa, doença, depressão e irritabilidade; (4) Crise - caracterizada por pessimismo, obsessão a respeito do próprio e com problemas pessoais, risco de doença grave; (5) “Batendo contra a parede”- caracterizada por a carreira e a vida estarem em perigo.

Esta teoria diferencia-se de outras por vários aspectos. Em primeiro lugar, nem todos os indivíduos são passíveis de apresentar *burnout*. Isso deve-se à existência de factores de risco primários, que incluem: a percepção individual do stress, as pressões familiares, as exigências ambientais, os problemas ocupacionais e as deficientes “válvulas de segurança” para o stress. Em segundo lugar, não segue um modelo linear causa-efeito, isto é, um trabalho mais cansativo pode não desencadear maior grau de exaustão. Pelo contrário, o trabalho excessivo e o descanso insuficiente raramente conduzem, por si só, ao *burnout*. Em contrapartida, um trabalho rotineiro e aborrecido pode ser fonte de stress por ser pouco estimulante. Em terceiro lugar, as coisas que procuramos e de que gostamos podem ter tanto potencial de exaustão como as coisas que evitamos e que nos desagradam. Em quarto lugar, quer para a teoria do stress, quer para a teoria do burnout, o locus de controlo da satisfação profissional está no indivíduo que trabalha, isto é, “o indivíduo é o único capaz de aliviar o seu stress e de reduzir a sua insatisfação”, ao contrário da teoria de higiene-motivação, em que o local de controlo é distinto do trabalhador. Tais factores, têm contribuído para que esta teoria assuma um lugar de relevo na compreensão e elucidação da noção de *burnout* (10).

Existem várias investigações, que abordam os efeitos do *burnout*, no âmbito de várias profissões, desde a enfermagem, à medicina ou aos profissionais do desporto. McIntyre, McIntyre & Silvério (11), indicam que existe uma relação entre *burnout* e uma maior incidência de problemas físicos e psicológicos que podem conduzir a uma diminuição de produtividade, taxas elevadas de absentismo, acidentes de trabalho, erros de desempenho, invalidez e problemas familiares.

O ambiente físico, a sobrecarga de trabalho, as situações de urgência na entrega de resultados analíticos, o horário por turnos, as relações interpessoais, a tomada de decisões e a constante mutação técnica e científica, poderão ser consideradas como fontes de

stress no laboratório.

Segundo McIntyre, McIntyre & Silvério (11), o sector da saúde tem recebido pouca atenção dos investigadores, apesar das profissões da saúde serem consideradas de alto risco em termos de stress ocupacional. No geral, a bibliografia sustenta que existe um vazio de conhecimentos no que diz respeito aos efeitos do stress sobre a saúde e o bem estar dos profissionais de laboratório, pois as suas consequências fisiológicas e as doenças daí decorrentes ainda não foram estudadas, neste grupo.

Com este estudo procurou-se elucidar acerca da experiência de *burnout* por parte de diferentes classes profissionais, a exercer funções em contexto laboratorial, nomeadamente Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública, Farmacêuticos, Médicos e Auxiliares de Acção Médica. Procurou-se ainda, identificar os principais factores que possam estar na sua origem e pensamentos associados.

MATERIAL E MÉTODOS

Participantes

Estudou-se um grupo constituído por 74 indivíduos, de ambos os sexos, representantes das seguintes classes profissionais: Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública (TACSP), Farmacêuticos (F), Médicos (M) e Auxiliares de Acção Médica (AAM), a exercer funções no contexto laboratorial do Hospital Geral de Santo António - Porto.

Da amostra fazem parte 21 TACSP, 19 F, 17 M e 17 AAM, com idades compreendidas entre os 35 e os 44 anos, sendo 60 (82%) do sexo feminino e 14 (18%) do sexo masculino. As características demográficas e profissionais da amostra, discriminadas por classe profissional, são apresentadas na Tabela I.

Instrumentos

Foi fornecido a todos os sujeitos que participaram neste estudo, um questionário que incluía os seguintes instrumentos ou medidas psicológicas: um questionário demográfico, o Inventário de Stressores Profissionais (12) e o Inventário de Pensamentos Associados a Estados de Stress (12).

Inventário de Stressores Profissionais

O inventário, em escala de Likert de quatro pontos, inclui 21 itens relativos a outras tantas possíveis fontes de stress e pressão psicológica associadas ao contexto de trabalho dos profissionais de saúde. Por exemplo, a uma afirmação

Tabela I - Características Demográficas e Profissionais da Amostra (n=74).

Variáveis Demográficas e Profissionais	Classes Profissionais							
	TACSP (n=21)		F (n=19)		M (n=17)		AAM (n=17)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Sexo								
Feminino	16	76.2	16	84.2	14	82.4	14	82.4
Masculino	5	23.8	3	15.8	3	17.6	3	17.6
Idade								
< 25 anos	—	—	2	10.5	—	—	1	5.9
25 A 34 anos	9	42.9	5	26.3	6	31.6	3	17.6
35 A 44 anos	7	33.3	8	42.1	11	57.9	5	29.4
> 44 anos	5	23.8	4	21.1	2	10.5	8	47.1
Tipo inst. onde trabalha								
Instit. Pública	18	85.7	17	89.5	15	78.9	16	94.1
Inst. Pública+inst. Privada	3	14.3	2	10.5	4	21.1	1	5.9
Unidade saúde onde trabalha								
Urgências e outros	16	76.2	2	10.5	17	89.5	6	35.3
Só no serviço	5	23.8	17	89.5	2	10.5	11	64.7
Horário trabalho								
Tempo inteiro	19	90.5	17	89.5	11	57.9	17	100.0
Part-time	—	—	—	—	—	—	—	—
42h semanais	1	4.8	2	10.5	8	42.1	—	—
Full-time + part-time	1	4.8	—	—	—	—	—	—
Habilitações académicas								
4.º ano escolaridade	—	—	—	—	—	—	7	41.2
9.º ano escolaridade	—	—	—	—	—	—	2	11.8
12.º ano escolaridade	1	4.8	—	—	—	—	6	35.3
Bacharelato	14	66.7	—	—	—	—	—	—
Licenciatura	6	28.6	18	94.7	19	100.0	—	—
Doutoramento	—	—	1	5.3	—	—	—	—
Outros	—	—	—	—	—	—	2	11.8
Tempo na profissão								
< 5 anos	2	9.5	4	21.1	—	—	2	11.8
5 a 9 anos	6	28.6	3	15.8	6	31.6	1	5.9
10 a 14 anos	4	19.0	4	21.1	6	31.6	2	11.8
15 a 19 anos	6	28.6	4	21.1	5	26.3	2	11.8
20 ou mais anos	3	14.3	4	21.1	2	10.5	10	58.8

TACSP - Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública; F - Farmacêuticos; M - Médicos; AAM - Auxiliares de Acção Médica.

do tipo: “Espaço físico onde desenvolve a sua profissão”, seguia-se uma escala de 4 pontos, para avaliar o grau de stress provocado por esse factor: 0 – nada stressante; 1 – pouco stressante; 2 – stressante e 3 – muito stressante.

Inventário de Pensamentos Associados a Estados de Stress

O inventário, em escala de Likert de 3 pontos que inclui 14 itens, foi utilizado para avaliar o que pensam as pessoas em situações de stress e com que frequência isso acontece. São avaliadas, duas características: a frequência com que determinado pensamento surge na mente do indivíduo: 0 – pouco frequente; 1 – frequente; 2 – muito frequente; e a valorização, que consiste no seu maior ou menor potencial para provocar stress: 0 – pouco stressante; 1 – stressante; 2 – muito stressante).

Questionário Demográfico

O questionário demográfico, elaborado pela investigadora, inclui itens referentes às características sócio-demográficas dos sujeitos (idade, sexo, habilitações literárias), itens respeitantes às suas características profissionais (anos de serviço, horário de trabalho, unidade de saúde e tipo de instituição onde trabalha), e três itens, em forma de escala

graduada de 0 a 100%, que permitem aos profissionais pontuar em relação aos seus graus percebidos de satisfação profissional, de stress profissional e de capacidade de resolução do stress.

Para efeitos de análise e tratamento estatístico dos dados obtidos, foram utilizados diversos procedimentos seguidamente referidos, disponíveis no programa “Statistical Package for Social Sciences – SPSS” para “Windows” (versão 10.0).

Para verificar se as médias de resposta apresentam diferenças estatisticamente significativas entre as quatro classes profissionais, efectuou-se o teste ANOVA (análise univariada).

A ANOVA foi seguida da realização de um Post-Hoc: Teste de Tukey, permitindo, deste modo, identificar as classes profissionais que se diferenciam face às variáveis previamente identificadas. Por fim, efectuou-se uma Correlação de Pearson entre as variáveis, grau de satisfação profissional, grau percebido de stress profissional e grau percebido de capacidade de resolução do stress.

Procedimento

O questionário foi distribuído junto dos profissionais, de

ambos os sexos, a exercer funções nas áreas laboratoriais do Hospital Geral de Sto. António – Microbiologia, Hematologia Clínica, Hematologia Laboratorial, Imunologia e Química Clínica.

A investigadora começou por ter acesso a uma lista detalhada do número total de indivíduos constituintes de cada profissão: TACSP – 80; F – 20; M – 36; AAM – 27, da qual, foram excluídos os directores de serviço (6), devido à especificidade das suas funções, pouco representativa da maioria dos profissionais desta área. Os participantes foram seleccionados aleatoriamente, com base nesta lista, procurando-se obter um total de 20 questionários por serviço - 5 por cada classe profissional, o que fez um total de 100 questionários fornecidos na totalidade. Em alguns serviços, o número de farmacêuticos não atingia os 5 indivíduos pré-estipulados. A investigadora optou por completar a amostra, fornecendo os restantes questionários, noutro serviço onde o número destes profissionais era superior.

A distribuição do questionário, em envelope fechado e sem identificação, foi efectuada pela investigadora directamente aos sujeitos.

RESULTADOS

As fontes de stress ocupacional avaliadas por classe profissional, bem como a média e o desvio padrão das respostas encontram-se discriminadas na Tabela II.

Para os TACSP factores como “conflitos interpessoais com colegas” e “desorganização de tarefas profissionais nas equipas” são referidos como algumas das principais fontes de stress. Em contrapartida, os Farmacêuticos consideram que as principais fontes de stress profissional são “a sobrecarga de trabalho” e a “desorganização na distribuição das tarefas”. Os Médicos valorizam mais a “falta de recursos humanos nos serviços” e a “desorganização de tarefas profissionais nas equipas”. Para os AAM a “baixa remuneração salarial” e a “falta de apoio sócio-emocional nas instituições” são as principais fontes de stress, no laboratório.

A Tabela III apresenta os resultados da estatística descritiva dos pensamentos associados a estados de stress. Verificamos que, para as quatro classes profissionais, é frequente o pensamento de que dificilmente poderão progredir na carreira e que esse pensamento está associado a stress no caso dos TACSP e dos AAM. Também no caso dos TACSP, pensamentos

de que não lhes é dada responsabilidade e autonomia e que as suas funções estão mal definidas, são frequentes mas pouco stressantes. No entanto, o grau de stress sobe quando estes profissionais, frequentemente pensam que nas suas equipas profissionais existem conflitos que não conseguem resolver. Os AAM, também, sentem com frequência que as suas funções estão mal definidas, mas pensamentos, como a impossibilidade de desenvolver todas as suas potencialidades profissionais, provocam mais stress.

Os resultados da análise univariada, apresentados na Tabela IV, evidenciam que existem diferenças significativas, em relação às seguintes fontes de stress: “baixa remuneração salarial”, “conflitos interpessoais com superiores hierárquicos”, “conflitos interpessoais com colegas”, “desorganização na distribuição das tarefas”, “falta de apoio sócio-emocional nas instituições” e “falta de recursos humanos” nos serviços. Por outro lado, as médias de resposta obtidas para pensamentos como: “não consigo relacionar-me com os meus colegas”, “não estou suficientemente preparado para o desempenho de todas as tarefas que me são exigidas”, “penso que as minhas funções profissionais estão mal definidas” e “penso que não me é dada a responsabilidade e autonomia para as quais estou preparado”, também apresentam diferenças estatisticamente significativas.

Os resultados, da comparação entre grupos, são apresentados na Tabela V. Da sua análise, é possível verificar que os conflitos interpessoais com superiores hierárquicos são maior fonte de stress para os Médicos, do que para os AAM, tal como a falta de recursos humanos nos serviços. Por outro lado, pensamentos tais como, que as suas funções profissionais estão mal definidas e que não lhes é dada a responsabilidade e autonomia para as quais estão preparados, não são tão frequentes na classe médica, como na dos TACSP. Os AAM, por sua vez, sentem mais como fontes de stress: a baixa remuneração salarial e a falta de apoio sócio-emocional nas instituições, em comparação com os outros profissionais - classe médica. De igual modo, para quase todos os pensamentos associados a situações de stress, verifica-se o mesmo: os AAM têm-nos mais frequentemente que qualquer outra classe. Surge uma excepção para os TACSP, que pensam com mais frequência que os Médicos e os Farmacêuticos,

Tabela II - Fontes de Stress Ocupacional por Classes profissionais.

Variáveis	Média				Desvio Padrão			
	TACSP	F	M	AAM	TACSP	F	M	AAM
1. Espaço físico onde desenvolve a sua profissão	1.05	.84	1.11	.50	.67	.69	.66	.89
2. Conflitos interpessoais com colegas	2.33	1.53	1.68	1.25	.73	.96	1.16	.93
3. Desorganização de tarefas profissionais nas equipas	2.33	1.95	2.11	1.75	.73	1.03	.74	1.00
4. Sobrecarga de trabalho	2.14	2.11	2.05	2.13	.91	.66	.71	.62
5. Falta de apoio sócio-emocional nas instituições	1.95	1.47	1.42	2.25	.92	.77	.69	.86
6. Falta de autonomia profissional	1.95	1.74	1.37	1.73	.97	.73	.83	.96
7. Situações inesperadas com elevada exigência	1.86	1.89	2.00	1.50	1.15	.88	.82	1.21
8. Falta de reconhecimento social da sua profissão	1.90	1.58	1.32	2.00	1.00	1.07	.95	.97
9. Discrepância entre os seus valores profissionais e os objectivos da administração	2.24	1.68	1.47	1.81	.83	1.06	.96	.83
10. Carácter rotineiro das tarefas	2.05	1.79	1.63	1.81	.97	.92	.83	1.22
11. Conflitos interpessoais com superiores hierárquicos	2.24	1.89	2.05	1.13	.94	.94	.91	.89
12. Interdependência de responsabilidades	1.29	1.32	1.42	1.13	.72	.89	.90	1.02
13. Falta de recursos materiais nos serviços	1.33	1.68	1.68	1.00	.73	.82	.75	1.03
14. Conflitos interpessoais com auxiliares	1.33	1.26	1.47	.94	.97	.81	.90	1.00
15. Desorganização hierárquica dos serviços	2.05	1.74	2.05	1.44	.80	.81	.97	1.03
16. Baixa remuneração salarial	2.00	1.53	1.37	2.44	1.00	1.02	.90	1.03
17. Carácter negativo (relacionado com doença e/ou morte) das tarefas	1.33	1.16	1.32	1.19	.86	1.01	.89	.83
18. Horário de trabalho	1.76	1.53	1.63	1.00	1.04	.96	.90	1.03
19. Falta de recursos humanos nos serviços	1.81	1.84	2.11	1.12	.81	.83	.74	1.11
20. Pressões dos superiores hierárquicos	1.71	1.47	1.74	1.50	1.01	.90	.87	1.03
21. Desorganização na distribuição das tarefas	2.24	2.00	2.05	1.38	.83	1.00	.71	.96

TACSP - Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública; F - Farmacêuticos; M - Médicos; AAM - Auxiliares de Acção Médica.

Tabela III - Pensamentos Associados a Estados de Stress.

Variáveis	Frequência								Grau de Stress							
	Média				Desvio Padrão				Média				Desvio Padrão			
	TACSP	F	M	AAM	TACSP	F	M	AAM	TACSP	F	M	AAM	TACSP	F	M	AAM
1. Penso que o que me é pedido profissionalmente ultrapassa o que eu consigo fazer	.24	.11	.16	.50	.54	.32	.37	.82	.14	.21	.42	.27	.36	.42	.69	.59
2. Não consigo relacionar-me com os meus colegas	.09	.00	.00	.38	.30	.00	.00	.50	.33	.16	.17	.56	.66	.50	.51	.73
3. Penso que não sou valorizado socialmente como devia	.57	.56	.33	1.00	.81	.78	.69	.97	.71	.61	.28	.75	.85	.61	.67	.77
4. Penso que não me é dada a responsabilidade e autonomia para as quais estou preparado	1.14	.39	.33	.94	.73	.61	.49	.77	.81	.83	.39	.69	.75	.62	.61	.79
5. Penso que as minhas funções estão mal definidas	1.14	.63	.39	1.13	.79	.83	.70	.89	.81	.83	.39	.69	.81	.76	.59	.93
6. Penso que tenho dificuldades em comunicar e integrar-me nas equipas	.19	.00	.00	.00	.51	.24	.24	.25	.14	.17	.33	.09	.36	.38	.59	.25
7. Penso que estou a ser subaproveitado em termos profissionais	.81	.83	.50	.88	.75	.71	.71	.89	.81	.89	.50	.56	.87	.76	.71	.81
8. Não estou suficientemente preparado para o desempenho de todas as tarefas profissionais que me são exigidas	.14	.00	.00	.50	.36	.24	.23	.63	.29	.11	.32	.56	.64	.32	.58	.73
9. Penso que dificilmente poderei progredir na carreira devido a razões institucionais contra as quais nada posso fazer	1.38	1.00	.78	1.13	.74	.88	.88	.96	1.38	.95	.61	1.00	.80	.97	.78	1.00
10. Penso que escolhi mal a carreira profissional	.76	.28	.39	.25	.89	.57	.70	.45	.76	.56	.44	.38	.89	.86	.70	.50
11. Penso que na minha equipa profissional existem conflitos que eu não posso controlar	1.10	.67	.50	.76	.83	.69	.71	.83	1.05	.83	.44	.63	.86	.86	.70	.80
12. Penso que devido a razões institucionais, que não controlo, não consigo desenvolver todas as minhas potencialidades profissionais	1.05	.94	.58	.94	.74	.73	.69	.85	1.14	.89	.58	.81	.85	.76	.77	.83
13. Penso que não sou valorizado dentro da minha equipa como devia	.67	.83	.22	.82	.66	.79	.43	.73	.67	.67	.33	.75	.73	.91	.59	.58
14. Penso que a minha profissão está a interferir negativamente com a minha vida pessoal	.29	.28	.53	.56	.64	.57	.84	.89	.43	.50	.54	.44	.75	.71	.76	.73

TACSP - Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública; F - Farmacêuticos; M - Médicos; AAM - Auxiliares de Acção Médica.

Tabela IV - Variáveis com diferenças estatisticamente significativas entre classes profissionais.

Variáveis	F	p*
Fontes de Stress		
Baixa remuneração salarial	4.210	.008
Conflitos interpessoais com superiores hierárquicos	4.855	.004
Conflitos interpessoais com colegas	4.460	.006
Desorganização na distribuição das tarefas	3.161	.030
Falta de apoio sócio-emocional nas instituições	4.181	.009
Falta de recursos humanos nos serviços	4.086	.010
Pensamentos		
Não consigo relacionar-me com os meus colegas	6.613	.001
Não estou suficientemente preparado para o desempenho de todas as tarefas que me são exigidas	5.024	.003
Penso que as minhas funções profissionais estão mal definidas	3.989	.011
Penso que não me é dada a responsabilidade e autonomia para as quais estou preparado	7.082	.000

F - frequência; p* - significância se p<0,05.

Tabela V - Comparação entre Classes Profissionais para as Variáveis com Diferenças Estatisticamente Significativas (assinaladas a *).

Variáveis		F	M	TACSP	AAM
Fontes de Stress					
Baixa remuneração salarial	TACSP	.47	.63	—	-.44
	AAM	.91*	1.07*	.44	—
Conflitos interpessoais com superiores hierárquicos	TACSP	.34	.19	—	1.11*
	M	.16	—	-.19	.93*
Conflitos interpessoais com colegas	TACSP	.81*	.65	—	1.08*
	TACSP	.24	.19	—	.86*
Desorganização na distribuição das tarefas	AAM	.78*	.83*	.30	—
	M	.26	—	.30	.99*
Falta de apoio socio-emocional nas instituições	AAM	.28*	.38*	.38*	—
	AAM	.36*	.44*	.45*	—
Penso que as minhas funções profissionais estão mal definidas	TACSP	.51	.75*	—	0
	AAM	.49	.74*	0	—
	M	-.24	—	-.75*	-.74
	TACSP	.75*	.81*	—	.21
Penso que não me é dada a responsabilidade e autonomia para as quais estou preparado	M	0	—	-.81*	-.60

TACSP - Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública; F - Farmacêuticos; M - Médicos; AAM - Auxiliares de Acção Médica.

que não lhes é dada a responsabilidade e autonomia para os quais estão preparados. É de referir, também, que os TACSP sentem, mais que as outras classes, que as suas funções estão mal definidas e que conflitos com colegas e superiores hierárquicos os stressam mais que aos AAM.

Os resultados da Correlação de Pearson, são apresentados no Tabela VI. Da sua análise podemos

concluir que: uma baixa percepção do stress implica um aumento da satisfação profissional e vice-versa, que quanto menor é a capacidade para resolver o stress, maior é o seu grau de percepção e vice-versa, e finalmente, que quanto mais elevado é o grau de satisfação profissional, mais elevado o grau percebido de capacidade de resolução do stress e vice-versa.

Tabela VI - Correlação entre grau de satisfação profissional, grau percebido de stress profissional e grau percebido de capacidade de resolução do stress (*. $p < .05$; **. $p < .01$).

	Grau percebido de Stress Profissional	Grau percebido de capacidade de resolução do stress
Grau de satisfação Profissional	-.332**	.265*
Grau percebido de capacidade de resolução do stress	-.255*	—

DISCUSSÃO

Pela análise dos resultados, verificamos que as principais fontes de stress indicadas pelos profissionais de laboratório estudados são: a sobrecarga de trabalho, a desorganização na distribuição das tarefas, a desorganização de tarefas profissionais nas equipas, os conflitos interpessoais com superiores hierárquicos e a desorganização hierárquica dos serviços. De um modo geral, estas variáveis coincidem com os relatados na literatura para médicos e enfermeiros noutros países e em Portugal (6,11,15). No entanto, é de ressaltar que em relação a estudos anteriormente realizados, estes resultados revelam que os profissionais consideram a desorganização, de tarefas e dos recursos humanos, como fontes de stress. Por outro lado, também se verificou que, preocupações relacionadas com a evolução na carreira estão frequentemente associadas a situações de stress, o que de certa forma corrobora a literatura revista (13,15).

Tendo em conta o contexto profissional, é de referir que a especificidade e heterogeneidade de competências das classes profissionais estudadas, são factores a considerar na interpretação dos resultados obtidos.

A falta de recursos humanos nos serviços e a desorganização de tarefas nas equipas influem de forma notória o bem-estar físico e psicológico da classe médica. Este facto, pensamos estar relacionado com a natureza das competências profissionais desta classe, por um lado clínicas e científicas, mas cada vez mais, organizacionais e de gestão de recursos, nos serviços. Verifica-se também, que factores de ordem emocional, tais como os conflitos interpessoais com colegas,

parecem ser menos valorizados pelos Médicos do que por TACSP e AAM. Tal poderá dever-se ao elevado número destes profissionais nos serviços, e pela sua maioria pertencer ao sexo feminino, que segundo a American Psychiatric Association (14), apresenta maior propensão para perturbações psicopatológicas como perturbações de humor e de ansiedade. Algo importante a ressaltar, prende-se com os resultados obtidos para a classe farmacêutica, indicando uma insatisfação ao nível do desenvolvimento das suas potencialidades profissionais. Pela análise dos dados demográficos, verifica-se que esta classe não executa serviço de urgência, o que de certo modo, aliado ao frequentemente referido pelos profissionais, poderá justificar a insatisfação anteriormente referida. É de salientar que tarefas relacionadas com serviço de urgência têm implicações negativas, aos níveis físico e psicológico, mas ao mesmo tempo de desafio, quebra com a rotina e acréscimo na remuneração salarial. Com competências bem definidas a nível da validação de resultados analíticos e técnicas laboratoriais especializadas, esta classe sente o stress pela sobrecarga de trabalho e pela desorganização na distribuição das tarefas.

Pela análise dos resultados, é notório que os TACSP parecem ser a classe profissional mais propensa a *burnout*, ao identificarem um elevado número de fontes de stress, no seu local de trabalho. Verifica-se que estes profissionais sentem, mais que outros, que as suas funções estão mal definidas, que não lhes é dada a autonomia e a responsabilidade para as quais se sentem preparados, e que existem conflitos nas suas equipas, que não conseguem controlar. De algum modo, os resultados parecem sinalizar que a satisfação dos TACSP é um problema de “controle de território” e do seu reconhecimento.

Situação inversa, foi a verificada para a classe dos AAM, neste estudo. Recordando o modelo teórico de Verninga e Spradley (10), um trabalho rotineiro e aborrecido pode ser fonte de stress por ser pouco estimulante. É sabido que as competências desta classe se resumem grandemente à manutenção e supervisão dos espaços físicos, com poucas expectativas de formação profissional e afins. Ao denotar preocupações a nível da falta de reconhecimento social da sua profissão e baixa remuneração salarial,

leva a depreender uma certa insatisfação, por um lado, mas por outro uma resignação à situação, facto talvez explicável pelo elevado número de anos de profissão destes profissionais, a indicar a proximidade de reforma e necessidade de descanso.

Santos-Lucas (8) refere um estudo acerca das necessidades de satisfação do pessoal hospitalar que revelou uma correlação positiva entre os resultados do trabalho (“job performance”) e a satisfação psicológica dos trabalhadores, o que de certa forma corrobora os resultados obtidos neste estudo sobre satisfação profissional. De um modo geral, os instrumentos utilizados denotaram bastante sensibilidade e adequação à população estudada, indo de encontro à literatura, ao sugerirem que um elevado grau de satisfação profissional está significativamente associado, não só a um baixo nível de percepção do stress, mas também, a uma elevada capacidade de resolução de problemas, para as quatro classes profissionais.

Investigações posteriores que procurem replicar este estudo devem atender às limitações da nossa amostra, que não sendo representativa de ambos os sexos não nos permitiu comprovar se a propensão do sexo feminino para perturbações psicopatológicas poderá ser responsável pelos conflitos interpessoais que possam ocorrer neste contexto profissional. Por outro lado, seria pertinente aprofundar a análise da insatisfação profissional da classe farmacêutica, no sentido de confirmar uma necessidade patente de maior autonomia em relação aos Médicos e aos TACSP.

Em resumo, as fontes de stress que foram mais apontadas e pensamentos a elas associados, indicam, tal como McIntyre, McIntyre & Silvério (10), que há necessidade de uma intervenção ao nível

organizacional no sector da saúde e, consequentemente a nível laboratorial. Três áreas de intervenção são sugeridas pelos dados: a) o alargamento dos quadros com a abertura de mais vagas na área da saúde para minimizar a carência de recursos humanos e a sobrecarga de trabalho; b) a formação de equipas especializadas, a nível hospitalar, na promoção e implementação de programas de gestão do stress profissional, com o recurso a estratégias de coping, para minimizar os efeitos nefastos do stress ocupacional; c) um maior investimento na investigação científica a nível laboratorial hospitalar, que ao motivar a classe médica a incrementar as suas potencialidades a nível científico e técnico, possibilitará o evoluir global de outras classes no sentido de elevar as competências, os desafios e a satisfação profissionais.

Não é recente o reconhecimento de que a redução do stress profissional resulta numa melhoria da qualidade e quantidade de trabalho (10). Os recursos humanos de saúde são porventura o capital cuja boa gestão mais benefícios trará às organizações e ao sistema de saúde e daí a importância de definir políticas organizacionais com impacto a esse nível, a partir da implementação de estratégias que intervenham junto dos factores que têm estado associados nomeadamente à insatisfação profissional e consequentemente ao *burnout*.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos especiais à Dra. Artemisa Rocha, docente da Escola Superior das Tecnologias da Saúde do Porto, pela sua disponibilidade, paciência e profissionalismo, sem os quais este trabalho não teria sido possível.

REFERÊNCIAS

1. Nogueira JM. Stress e exaustão médicas: que saída para a crise?. Estudo feito no âmbito do Internato de especialidade de Saúde Pública, Escola Nacional Saúde Pública, 1988.
2. Veloso MI. O stress do enfermeiro e as categorias de enfermagem. Estudo feito no âmbito da especialidade Médico – Cirúrgica, Universidade Católica Portuguesa, 1994.
3. Selye H. The evolution of the stress concept. In: L. Levi. eds., *Society, stress and disease*. London: Oxford University Press; 1971. p.299-311.
4. Lazarus RS, Folkman S. Stress, appraisal, and coping. New York: Springer; 1984. p.359-370.
5. Vaz-Serra A. Um estudo sobre coping: o inventário de resolução de problemas. *Revista Psiquiatria Clínica* 1988; **9**: 301-316.
6. Rodrigo ML. Estrés de los profesionales de enfermería: Sobre qué o quien repercute? *Revista ROL de Enfermería* 1995; **201**: 65-68.
7. Kandolin I. *Burnout of female and male nurses in shift work*. Vantaa (Finland): Institute of Occupational Health (Taylor & Francis, Lda.); 1993.
8. Santos-Lucas J. Satisfação profissional: problema de gestão ou administração de recursos humanos? - o caso da enfermagem. Comunicação apresentada no Encontro de Saúde Ocupacional, no âmbito da comemoração do Dia Internacional do Enfermeiro: Sindicato dos Enfermeiros da Zona Sul; 1987.

9. Carré R. Em busca do equilíbrio: como aumentar a auto estima, evitar o stress, a depressão e a ansiedade. Lisboa: Círculo de Leitores; 1997.
10. Venning R, Spradley J. The work stress connection – How to cope with job *burnout*. New York: Ballantine Books; 1982.
11. McIntyre T, McIntyre S, Silvério J. Respostas de stress e recursos de coping nos enfermeiros. *Revista Análise Psicológica* 1999; **3** :513-527
12. Dubreucq JL. O desgaste dos enfermeiros. *Revista Le Concours Medical* 1989; **36**: 90-92.
13. Gunnarsdóttir H, Rafnsson V. Mortality among Icelandic nurses. *Scandinavian Journal Work Environ and Health* 1995; **21**: 24-29.
14. Martins P, Martins AC. O regime de horário de trabalho e a vida social e doméstica: satisfação e estratégias de coping – um estudo numa amostra de enfermeiros. *Revista Análise Psicológica* 1999; **3** : 529-546.
15. Michie S, Ridout K, Johnston M. Stress in nursing and patients satisfaction with health care. *British Journal of Nursing* 1996; **5**: 1002-1006.
16. Silvério JM. Esgotamento (*Burnout*) no desporto. In: Cruz JF. eds. Manual de Psicologia do Desporto. 1996. p.503-520.
17. D'Oliveira M, Greene J. Testes estatísticos em psicologia. Lisboa: Editorial Estampa; 1991: p.512-526.
18. Almeida LS, Freire T. Metodologia da investigação em psicologia e educação. Braga: APPORT; 1997. 1: p.12-25.

AGENDA DE EVENTOS

Encontros – Debate – “Ensino e Exercício”

Novos Paradigmas das Profissões das Tecnologias da Saúde

15 de Janeiro de 2005, Lisboa

Auditório da Faculdade Medicina Veterinária – Pólo Universitário do Alto da Ajuda

Tel: 229 069 170

Email: scts@scts.pt

Website: <http://www.scts.pt>

Reunião Anual da Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo/VI Congresso Nacional de Endocrinologia

28 a 30 de Janeiro

Local: A Definir

XLI Conferências de Genética

03 a 04 de Fevereiro, Porto

Local: Biblioteca Almeida Garrett

V Jornadas de Análises Clínicas e Saúde Pública

4 e 5 de Março de 2005, Coimbra

Escola Superior de Tecnologia da Saúde

Contactos: Telefones : 936772626 / 968100585 / 964809792 Email: 5j_acsp@sapo.pt

15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

2 a 5 de Abril de 2005, Copenhagen, Denmark

Website: <http://www.akm.ch/eccmid2005/>

EUROMEDLAB 2005

16th IFCC-FESCC European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

Focus 2005 - National Meeting of the Association of Clinical Biochemists

8 a 12 de Maio de 2005, Glasgow, Scotland

Website: www.glasgow2005.org

III Congresso da Sociedade Portuguesa de BioAnalistas da Saúde (SPBS)

14 e 15 de Maio de 2005, Leiria

Hotel Eurosol

Telm: 969235980

Email: spbs@portugalmail.pt

XVIII Congreso Nacional de la Asociación Española de Técnicos de Laboratorio

19, 20 e 21 de Maio de 2005, Logroño

Palácio de Congresos y Auditório de La Rioja

Website: www.aetel.es

4th International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases

18 - 21 June 2005, Logroño (La Rioja), Spain

Contact: Congresos E Incentivos Rioja

Phone +34 941 202664 Fax +34941 214377

Email: cr@rickettsia.net

URL <http://www.rickettsia.net>

2nd International ASM Conference on Enterococci

28 - 31 August 2005, Helsingor, Denmark

Contact: ASM Conferences

Phone +1 (202) 942 9261

Fax +1 (202) 942 9340

Email conferences@asmusa.org

URL <http://www.asm.org>



bioanálise

BOLETIM DE ASSINATURA ANUAL

Nome _____

Morada _____

Código Postal _____ Localidade _____

Telefone _____ E-mail _____

Profissão _____ Título Académico _____

Junto envio o cheque n.º _____ s/ Banco _____
no valor de 15,00€,

Assinar

Renovar a Assinatura

Enviar para:

*Sociedade Portuguesa de BioAnalistas da
Saúde, Apt. 2009 • 3501-909 Viseu
E-mail: spbs@portugalmail.pt • www.spbs.pt*



Sociedade Portuguesa de BioAnalistas da Saúde

BIOANÁLISE

Sociedade Portuguesa de
Bioanalistas da Saúde
Apt. 2009
3501-909 Viseu - Portugal
Telm: 969235980

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

<input type="checkbox"/>	[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

