

Ana Cristina de Carvalho Fernández Fonseca

**DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DOS DERRAMES  
PLEURAS ATRAVÉS DO TESTE DE AGLUTINAÇÃO  
DE PARTÍCULAS DE LÁTEX**

Universidade Federal de Minas Gerais  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde  
Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente  
Belo Horizonte - MG

2010

Ana Cristina de Carvalho Fernández Fonseca

**DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DOS DERRAMES  
PLEURAI ATRAVÉS DO TESTE DE AGLUTINAÇÃO  
DE PARTÍCULAS DE LÁTEX**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, área de concentração em Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientador: Prof. Paulo Augusto Moreira Camargos

Belo Horizonte - MG

2010

F676d Fonseca, Ana Cristina de Carvalho Fernández.  
Diagnóstico etiológico dos derrames pleurais através do teste de aglutinação de partículas de látex [manuscrito]. / Ana Cristina de Carvalho Fernández Fonseca. Belo Horizonte: 2010.

??f - il

Orientador: Paulo Augusto Moreira Camargos.

Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.

Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Derrame Pleural. 2. Empiema. 3. Testes de Fixação do Látex. 4. Técnicas Imunológicas. 5. Dissertações Acadêmicas. I. Camargos, Paulo Augusto Moreira. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.

NLM- WS 280



FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

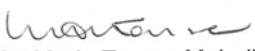
Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533  
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640  
cpg@medicina.ufmg.br

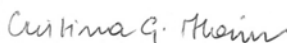


**DECLARAÇÃO**

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos Professores Doutores: Paulo Augusto Moreira Camargos, Maria Teresa Mohallen Fonseca, Cristina Gonçalves Alvim e Sérgio Luís Amantéa, aprovou a defesa da dissertação intitulada **“DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DOS DERRAMES PLEURAI ATRAVÉS DO TESTE DE AGLUTINAÇÃO DE PARTÍCULAS DE LÁTEX”** apresentada pela mestranda **ANA CRISTINA DE CARVALHO FERNÁNDEZ FONSECA**, para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 17 de março de 2010.

  
Prof. Paulo Augusto Moreira Camargos  
Orientador

  
Profa. Maria Teresa Mohallen Fonseca

  
Profa. Cristina Gonçalves Alvim

  
Prof. Sérgio Luís Amantéa



FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533  
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640  
epg@medicina.ufmg.br



UFMG

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de ANA CRISTINA DE CARVALHO FERNÁNDEZ FONSECA, nº de registro 2008653786. Às nove horas e trinta minutos, do dia **dezessete de março de dois mil e dez**, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG, a Comissão Examinadora de Dissertação indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: **"DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DOS DERRAMES PLEURAIS ATRAVÉS DO TESTE DE AGLUTINAÇÃO DE PARTÍCULAS DE LÁTEX"**, requisito final para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências da Saúde: Saúde da Criança e do Adolescente, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Paulo Augusto Moreira Camargos, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do trabalho final, passou a palavra à candidata para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata e do público para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Paulo Augusto Moreira Camargos/ Orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>aprovada</u>
Profa. Maria Teresa Mohallen Fonseca	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADO</u>
Profa. Cristina Gonçalves Alvim	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADO</u>
Prof. Sérgio Luís Amantéa	Instituição: UFCSPA	Indicação: <u>APROVADO</u>

Pelas indicações a candidata foi considerada aprovada

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 17 de março de 2010.

Prof. Paulo Augusto Moreira Camargos/ Orientador Paulo Augusto Moreira Camargos

Profa. Maria Teresa Mohallen Fonseca Maria Teresa Mohallen Fonseca

Profa. Cristina Gonçalves Alvim Cristina Gonçalves Alvim

Prof. Sérgio Luís Amantéa Sérgio Luís Amantéa

Prof. Joel Alves Lamounier/Coordenador Joel Alves Lamounier

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador.

PROF. JOEL ALVES LAMOUNIER  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde  
Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente  
Faculdade de Medicina/UFMG

Joel Alves Lamounier  
CONFERE COM O ORIGINAL  
Centro de Pós-Graduação

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

Reitor: Ronaldo Tadêu Pena

Vice-Reitora: Heloisa Maria Murgel Starling

Pró-Reitora de Pós-graduação: Prof<sup>a</sup>. Elizabeth Ribeiro da Silva

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Carlos Alberto Pereira Tavares

**FACULDADE DE MEDICINA**

Diretor: Francisco José Penna

Vice-Diretor: Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Carlos Faria Santos Amaral

Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação: Joel Alves Lamounier

Chefe do Departamento de Pediatria: Prof<sup>a</sup>. Maria Aparecida Martins

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – ÁREA DE  
CONCENTRAÇÃO SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE**

Coordenador: Prof. Joel Alves Lamounier

Subcoordenador: Prof<sup>a</sup>. Ana Cristina Simões e Silva

Colegiado

Prof<sup>a</sup>. Ivani Novato Silva

Prof. Jorge Andrade Pinto

Prof<sup>a</sup>. Lúcia Maria Horta Figueiredo Goulart

Prof<sup>a</sup>. Maria Cândida Ferrarez Bouzada Viana

Prof. Marco Antônio Duarte

Prof<sup>a</sup>. Regina Lunardi Rocha

Gustavo Sena Sousa (Representante Discente)

Ao meu esposo João e aos meus filhos Felipe e Lívia,  
que me deram força para chegar até aqui.

## AGRADECIMENTOS

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, em especial:

A Deus, em primeiro lugar, pois se não fosse de sua vontade não chegaria até aqui.

Ao meu esposo João, pois sem sua ajuda e presença constante nada disso seria possível.

Aos meus filhos Felipe e Lívia, que iluminam meus dias e são minha alegria.

Aos meus pais, Fernández e Ana Lúcia, pelo incentivo e apoio em todos os momentos.

Aos meus irmãos, Rodrigo e Francisco, pela compreensão e carinho.

Ao professor Paulo Augusto Camargos, pelo estímulo e incentivo em mais essa etapa da minha vida.

À Prof<sup>a</sup>. Laura Lasmar, pela sua paixão pela pesquisa.

À colega Elisabeth Martins, pois é dela grande parte do mérito desse trabalho.

À Maria das Graças Benfica e Chequer Chamone, por auxiliarem na pesquisa dos dados.

“É melhor tentar e falhar,  
que preocupar-se e ver a vida passar;  
é melhor tentar, ainda que em vão,  
que sentar-se fazendo nada até o final.

Eu prefiro na chuva caminhar,  
que em dias tristes em casa me esconder.

Prefiro ser feliz, embora louco,  
que em conformidade viver ...”

**Martin Luther King**

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

anti-Pn - anti-*Streptococcus pneumoniae* omniserum contra 85 sorotipos

anti-Hib - anti-*Haemophilus influenzae* tipo b

CIE - Contraimunoeletroforese

DNA - ácido desoxirribonucleico

EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético

ELISA - Teste imunoenzimático

IC - Intervalo de confiança

PCR - Reação em cadeia de polimerase

TAPL - Teste de aglutinação de partículas de látex

## SUMÁRIO

<b>1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS</b> .....	12
<b>2. NOTA EXPLICATIVA</b> .....	13
<b>3. ARTIGO 1 - DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DOS DERRAMES PLEURAIIS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES ATRAVÉS DE TESTES NÃO CONVENCIONAIS COMPARADOS COM O TESTE DE AGLUTINAÇÃO DE PARTÍCULAS DE LÁTEX (TAPL): UMA REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	14
3.1 Resumo .....	15
3.2 Abstract .....	16
3.3 Introdução .....	17
3.4 Teste de Aglutinação de Partículas de Látex .....	19
3.5 TAPL no Líquido pleural .....	20
3.6 Outros métodos não convencionais .....	23
3.7 Considerações finais .....	26
3.8 Referências Bibliográficas .....	27
<b>4. ARTIGO 2 - DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DOS DERRAMES PLEURAIIS ATRAVÉS DO TESTE DE AGLUTINAÇÃO DE PARTÍCULAS DE LÁTEX (TAPL)</b> .....	31
4.1. Resumo .....	32
4.2. Abstract .....	33
4.3. Introdução .....	34
4.4. Material e Métodos .....	36
4.5. Resultados .....	39
4.6. Discussão .....	42
4.7. Referências Bibliográficas .....	45
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	48
<b>6. ANEXO 1: PROTOCOLO DE ESTUDO</b> .....	49
<b>7. ANEXO 2: FIGURAS</b> .....	50
<b>8. ANEXO 3: TABELA DE PROCEDIMENTOS DO SUS</b> .....	52

## 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Durante minha atividade clínica como pneumologista pediátrica, muito me angustia o uso inadequado de antibióticos, seja por não ter indicações, seja pelo desconhecimento do agente causador da infecção.

Dentro da pneumologia um quadro de difícil diagnóstico etiológico é o derrame pleural. Na prática clínica, o que vemos é o início da antibioticoterapia prévia à coleta do espécime e aos resultados dos exames, quando é realizado a toracocentese. A justificativa é que o resultado da cultura, que é o exame mais indicado para definir a etiologia, demora muito.

O conhecimento do agente etiológico e sua sensibilidade, permitiria o uso de antibióticos de menor espectro com diminuição no custo e na seleção de resistência; além da identificação de patógenos incomuns.

Temos, atualmente, várias técnicas laboratoriais que nos auxiliam no diagnóstico etiológico de vários quadros infecciosos. Porém, a maioria dessas novas técnicas, são de custo elevado, necessitam recursos humanos especializados, aparelhagem específica, itens de difícil acesso para nossa realidade cotidiana.

Um exame que é muito utilizado na prática clínica para o diagnóstico etiológico das meningites purulentas é a realização no líquido do teste de aglutinação de partículas de látex. É um exame rápido, de baixo custo, sem necessidades de treinamento prolongado ou equipamentos sofisticados.

Daí surgiu o interesse em avaliar a aplicabilidade do teste de aglutinação de partículas de látex no diagnóstico etiológico dos derrames pleurais.

## 2. NOTA EXPLICATIVA

A presente dissertação foi organizada na forma de dois artigos, de acordo com o regimento do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente, da Faculdade de Medicina da UFMG.

O primeiro artigo consiste em uma revisão da literatura sobre diagnóstico etiológico dos derrames pleurais em crianças e adolescentes através de testes não convencionais, comparando-os com o teste de aglutinação de partículas de látex (TAPL). Já o segundo teve como objetivo avaliar a utilidade clínica do teste de aglutinação de partículas de látex para detecção de antígenos dos diversos sorotipos de *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* tipo b em pacientes que apresentaram derrame pleural.

**3. ARTIGO 1 - DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DOS DERRAMES PLEURASIS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES ATRAVÉS DE TESTES NÃO CONVENCIONAIS COMPARADOS COM O TESTE DE AGLUTINAÇÃO DE PARTÍCULAS DE LÁTEX (TAPL): UMA REVISÃO DA LITERATURA.**

### 3.1. Resumo

**Introdução:** O diagnóstico etiológico dos derrames pleurais é um desafio vivenciado frequentemente na prática clínica. Corrobora essa observação a existência de grande número de técnicas de imunodiagnóstico e métodos de biologia molecular, tais como contraímuno eletroforese (CIE), reação em cadeia de polimerase (PCR) DNA, detecção de imunocomplexos circulantes, ELISA, imunocromatografia, teste de aglutinação de partículas de látex (TAPL), entre outros.

**Objetivo:** Fazer uma revisão da literatura sobre a utilização de técnicas não convencionais como a CIE, TAPL, PCR-DNA, ELISA, no diagnóstico etiológico dos derrames pleurais nas crianças e adolescentes, com ênfase no TAPL.

**Métodos:** Revisão narrativa nas bases de dados Medline e Lilacs, selecionando os artigos mais relevantes. Foram revisados 33 trabalhos a partir das seguintes palavras-chaves: pleural effusion, counterimmuno electrophoresis, DNA-PCR, ELISA, immunochromatography, latex particles agglutination test, children, adolescents.

**Síntese dos Dados:** As técnicas não convencionais são mais sensíveis que as convencionais, inclusive o TAPL, no diagnóstico etiológico dos derrames pleurais, com sensibilidade variando de 68-100%. Afora o TAPL a grande maioria delas exige capacitação técnica, aparelhagem sofisticada e apresentam custo elevado para sua realização.

**Conclusões:** O TAPL é uma opção de técnica simples, de grande utilidade clínica, de fácil execução, dispensando recursos humanos especializados e com custo acessível, além de receber pouca influência com o uso prévio de antibacterianos.

**Palavras-chave:** Derrame pleural, técnicas imunoquímicas, diagnóstico etiológico, crianças, adolescentes.

### 3.2 Abstract

**Introduction:** The etiological diagnosis of pleural effusion is a challenge often experienced in clinical practice. Corroborate this observation the existing of many immunodiagnosis and molecular biology methods such as counterimmunoelectrophoresis (CIE), polymerase chain reaction (PCR) DNA, detection of circulating immune complexes, ELISA, immunochromatography, latex particles agglutination test (LPAT), among others.

**Objective:** To review the literature on the use of unconventional techniques such as CIE, LPAT, DNA-PCR, ELISA in diagnosis of pleural effusions in children and adolescents, with emphasis on LPAT.

**Methods:** Narrative review of the Medline and Lilacs databases, selecting the most relevant articles. Were reviewed 33 studies from the following keywords: pleural effusion, Counterimmunoelectrophoresis, DNA-PCR, ELISA, immunochromatography, latex particles agglutination test, children, adolescents.

**Summary of Data:** The non-conventional techniques are more sensitive than conventional ones, including the LPAT in the etiological diagnosis of pleural effusions, with sensitivity ranging from 68-100%. Aside from the LPAT most of them require qualification technique, sophisticated equipment and have high cost for its implementation.

**Conclusions:** LPAT is an option with simple technique, clinically very useful, easy execution, cost-effective, without requiring specialized human resources beyond the little influence of the previous use of antibiotics.

**Keywords:** Pleural effusion, immunochemical techniques, etiologic diagnosis, children, adolescents.

### 3.3 Introdução

Derrame pleural é o acúmulo anormal de líquido na cavidade pleural, que é o espaço virtual entre as pleuras visceral e parietal, as quais deslizam uma sobre a outra, separadas por uma fina película de líquido.

As principais causas de derrame pleural em crianças são as infecciosas. Sendo o principal agente o *Streptococcus pneumoniae*. A tuberculose também é uma causa infecciosa não desprezível de derrame pleural nesse grupo etário, principalmente nos países de alta prevalência da doença, como o Brasil.

Um aumento na incidência de derrame pleural em crianças tem sido descrito em alguns centros de pesquisas internacionais, e talvez esteja associado ao uso inadequado de antibióticos, ao atraso no diagnóstico, ou presença de agentes etiológicos incomuns.<sup>1,2</sup>

A incidência de derrame pleural nas pneumonias varia de 25% a 44%, em pacientes internados, sendo sua presença considerada como um fator de pior prognóstico, com maior morbidade e mortalidade. A conduta inicial frente ao derrame pleural é a toracocentese, que tem como um de seus objetivos a obtenção de material para a identificação do agente etiológico.<sup>3</sup> Em geral, o material colhido é enviado para análise bioquímica, cultura, coloração pelo Gram e antibiograma. Em alguns centros, principalmente aqueles dedicados à pesquisa, são realizados exames mais complexos, tais como contraímunoeletroforese (CIE), reação em cadeia de polimerase (PCR) DNA, detecção de imunocomplexos circulantes, ELISA, imunocromatografia, teste de aglutinação de partículas de látex (TAPL), entre outros.

Apesar de existir por mais tempo que os métodos relatados anteriormente, o TAPL é muito pouco utilizado na identificação dos agentes etiológicos nos derrames pleurais. Sua utilização clínica, em muitos locais, fica restrita à pesquisa de agentes etiológicos em amostras de líquido, quando se tem suspeita de meningite bacteriana. É visto com especial interesse, pois, tem um custo relativamente baixo quando comparado aos exames de tecnologia mais recente e até mesmo aos tradicionais, como a hemocultura e cultura de líquido pleural; é de fácil execução, dispensa o uso de aparelhos sofisticados e onerosos, pode ser facilmente manuseado por pessoal com conhecimento básico em técnicas laboratoriais, oferece resultados rápidos com leitura a olho nu, pode ser realizado em laboratórios de qualquer porte mesmo

aqueles com recursos mínimos.<sup>4,5</sup>

Este artigo faz uma revisão sobre a utilização de técnicas não convencionais comparadas com o TAPL no diagnóstico etiológico do derrame pleural.

### 3.4 Teste de aglutinação de partículas de látex (TAPL)

O teste de aglutinação de partículas de látex baseia-se numa reação de aglutinação entre antígeno e anticorpo, ou seja, micropartículas de látex são recobertas com concentrações específicas de anticorpos a determinados componentes antigênicos da parede do patógeno de interesse, obtidos a partir de soro sensibilizado de animais, mais precisamente de coelhos. Colhe-se o material biológico (líquido pleural no caso) que contém antígenos capsulares, processa-se o mesmo de acordo com as recomendações de cada fabricante e adiciona-se o reagente no qual estão contidas as partículas de látex fixadas com anticorpos sensibilizados. Na presença de reação de aglutinação entre antígeno e anticorpo, nota-se, a olho nu, uma aglutinação nítida e rápida com um padrão de granularidade homogêneo; caso contrário, nenhuma alteração é observada. <sup>4,5</sup>

O primeiro relato com uso do TAPL em doenças infecciosas foi em 1963, sendo empregado no diagnóstico de infecção por *Cryptococcus neoformans*, através de reação em diversos líquidos corporais. <sup>6</sup>

A publicação inicial, utilizando o TAPL em pneumonia foi em 1976; Coonrod e Rylko-Bauer selecionaram 50 pacientes adultos com pneumonia pneumocócica e 45 indivíduos sadios ou com infecção não pneumocócica. Amostras de sangue foram colhidas dos participantes e submetidas ao teste para detecção de polissacarídeo capsular pneumocócico; obteve-se sensibilidade de apenas 22% e especificidade de 100%. Neste mesmo estudo o método de comparação adotado foi a contra-immunoelectroforese (CIE), que foi positiva em 20 pacientes (sensibilidade de 40%) e negativa em todos os controles. <sup>7</sup>

### 3.5 TAPL no líquido pleural

O derrame e empiema pleural têm incidência de 3,3/100.000 crianças, sendo sua presença considerada como um fator de pior prognóstico em casos de pneumonias, com maior morbidade e mortalidade. A conduta frente ao derrame pleural é a toracocentese.<sup>3, 10</sup>

Através da toracocentese busca-se o diagnóstico etiológico, seja pelos métodos convencionais (cultura e coloração pelo Gram), seja por métodos mais avançados, a saber, técnicas imunoquímicas (entre as quais se situa o teste de aglutinação de partículas de látex) e de biologia molecular. Esta última, devido ao elevado custo, tem aplicação restrita em países como o Brasil.

O diagnóstico etiológico dos derrames pleurais parapneumônicos é frequentemente difícil, mesmo em nações desenvolvidas. O grande número de técnicas de imunodiagnóstico e a recente introdução de métodos de biologia molecular para tal finalidade corroboram essa observação.<sup>8</sup>

Segundo o Guidelines da Sociedade Britânica de Doenças do Tórax, a identificação do organismo infectante no líquido pleural varia de 8 a 76% de acordo com a técnica utilizada (cultura, coloração pelo Gram, PCR-DNA). Em um recente estudo multicêntrico no Reino Unido somente 17% das culturas de líquido pleural foram positivas. O uso de novas técnicas moleculares, como PCR, permite uma positividade maior na pesquisa do agente etiológico.<sup>10</sup>

A presença de um exsudato parapneumônico aumenta consideravelmente a chance de se isolar o agente etiológico em cultura, com sensibilidade que varia de 50 a 70%. Na prática clínica, entretanto, observa-se baixa identificação do patógeno (em torno de 30%) decorrente do uso freqüente de antibióticos antes da toracocentese.<sup>11, 16</sup>

Em 1991, Requejo *et al*<sup>18</sup> conduziram um estudo, onde 27 amostras de líquido pleural foram pesquisadas. Foram realizados o TAPL e o CIE nas amostras de líquido pleural obtendo-se sensibilidade de 100% para ambos os métodos. Neste estudo a hemocultura teve sensibilidade de 19,3%. Os autores concluíram que o TAPL, sobretudo em amostras de derrame pleural, como teste de imunodiagnóstico, apresenta desempenho semelhante em relação à CIE e superior a hemocultura no diagnóstico etiológico de pneumonias comunitárias.

Num outro estudo, Requejo *et al*<sup>19</sup> propuseram-se determinar a

acurácia de técnicas de imunodiagnóstico em estabelecer a etiologia de pneumonias comunitárias. Entre estas foram realizados o TAPL, a CIE e o Dot-ELISA em amostras de líquido pleural de crianças de zero a 12 anos de idade com achados clínicos, laboratoriais e radiológicos sugestivos de quadro bacteriano. Com a finalidade de avaliar a especificidade desses testes, amostras de líquido pleural de pacientes com tuberculose e de sangue de outras crianças sadias foram obtidas e culturas de todas as amostras foram realizadas. Os autores focaram a pesquisa nas propriedades do Dot-ELISA, e assim consideraram para fins de comparação, o TAPL, a CIE e as culturas, como "padrões de referência". A cultura de líquido pleural apresentou 14,5% de isolamento, com 40 casos positivos para *S. pneumoniae*, 21 para *Hib* e três para *S. aureus*. O TAPL mostrou-se ligeiramente superior ao Dot-ELISA e também à CIE, com sensibilidade de 97,5%. Entretanto estes dois últimos testes apresentaram maior especificidade, a saber, Dot-ELISA 83%, CIE 79,1% e TAPL 61,3%.

Le Monnier *et al*<sup>12</sup> coletaram amostras de 78 crianças com derrame pleural com idade média de 3,9 anos e realizaram os seguintes testes: cultura convencional, TAPL, imunocromatografia e reação em cadeia de polimerase (PCR) 16S rDNA. Das amostras selecionadas, 40 eram de empiemas pneumocócicos. Dentre essas, a cultura foi positiva em 23 (58%); a coloração pelo Gram em 28 (70%); o TAPL em 36 amostras (90%); hemocultura positiva em 14 (35%); e o PCR DNA em todas as 40 amostras (100%). A sensibilidade e especificidade do TAPL, quando comparado com cultura e/ou PCR, foi de 90% e 95%, respectivamente. Ao final do artigo, os autores sugerem um algoritmo para a abordagem etiológica dos derrames pleurais, utilizando métodos rápidos de diagnósticos (coloração pelo Gram + TAPL) e cultura:

- se Gram e/ou TAPL positivos e cultura negativa – realizar PCR específico para *S. pneumoniae*
- se Gram, TAPL e cultura negativo – realizar PCR-DNA para identificar etiologia bacteriana.

Eastham *et al*, em Newcasthe, estudaram 47 crianças com derrame pleural e idade média de 5,6 anos. Realizaram cultura em amostra de sangue e líquido pleural, além de TAPL e PCR. O *Streptococcus pneumoniae* foi o agente etiológico implicado em 36 das amostras estudadas. A cultura do líquido pleural foi negativa em 94% das amostras. O TAPL apresentou positividade de

26%, enquanto o método de PCR foi positivo em 75% das amostras de líquido pleural.<sup>27</sup>

Boersma *et al* analisaram 9 amostras de derrame pleural e compararam TAPL, com coloração pelo Gram e cultura. O método de aglutinação de partículas de látex apresentou uma sensibilidade de 89%. Apesar do número pequeno de amostras, os autores concluíram que o TAPL tem alta especificidade para a detecção do *S. pneumoniae* no líquido pleural, sendo o resultado útil no direcionamento do tratamento antibacteriano.<sup>20</sup>

Chandler *et al* compararam 4 métodos diferentes (sonda de DNA, TAPL, solubilidade em bile, teste de suscetibilidade a optoquina) utilizando amostras de 209 culturas positivas para *Streptococcus pneumoniae* provenientes do trato respiratório com o objetivo de avaliar as técnicas de identificação desse microorganismo. Ao final do estudo, o teste da optoquina apresentou 100% de sensibilidade e especificidade, e o TAPL 98,5 e 95%, respectivamente. A sensibilidade e especificidade para o teste de solubilidade em bile foi de 98% e 100% respectivamente.<sup>15</sup>

### 3.6 Outros métodos não convencionais

Vários estudos internacionais têm utilizado amostras de líquido pleural aplicando técnicas como reação em cadeia de polimerase (PCR) DNA, imunocromatografia, sonda de DNA, ELISA, para pesquisa do agente etiológico de pneumonias, com sensibilidade variando entre 68 – 100%.<sup>12-17</sup> Porém a necessidade de profissional altamente capacitado, alto custo financeiro, complexidade técnica, tem feito com que o uso destas técnicas seja restrito a centros de pesquisa.

Saglani *et al*, pesquisaram a presença do agente etiológico em crianças com empiema através da comparação entre técnica molecular (PCR 16S rDNA) e cultura bacteriana. Foram analisadas 32 amostras de pacientes com idade média de 2,9 anos. A cultura apresentou uma sensibilidade de 18,7% enquanto o exame de PCR foi de 69%.<sup>1</sup>

Andreo *et al*, estudaram 91 amostras de derrame pleural de pacientes entre 18 a 91 anos. Foram realizados hemocultura, detecção de antígeno urinário pela imunocromatografia, detecção de antígeno no derrame pleural pela CIE e imunocromatografia, cultura e coloração pelo Gram do líquido pleural. A imunocromatografia em líquido pleural apresentou uma sensibilidade de 79% e especificidade de 93,6%.<sup>16</sup>

Lahti *et al* estudaram 30 amostras de sangue e 12 amostras de líquido pleural, provenientes de crianças entre 2,4 e 8,7 anos com quadro de pneumonia e empiema. Foram realizados cultura de ambos os espécimes e pesquisa de PCR DNA. Com o uso da técnica de PCR foi possível identificar o *Streptococcus pneumoniae* em 75% mais amostras que somente pela cultura do líquido pleural.<sup>14</sup>

Ploton *et al* utilizaram a técnica de imunocromatografia - Binax Now, em 69 amostras de líquido pleural de crianças com idade média de 4,1 anos e compararam com cultura. A cultura convencional teve uma positividade de 22%, enquanto o Binax Now apresentou 69%, sendo a sensibilidade de 100% e a especificidade de 33%.<sup>13</sup>

Requejo e Coccoza estudaram o valor diagnóstico da proteína C-reativa em pneumonias bacterianas. Um total de 265 amostras de líquido pleural foram submetidas a exames de cultura, CIE, DOT-ELISA e proteína c-reativa. Como

resultado encontrou-se uma positividade de 22% para cultura, 30% para a CIE, 42% para DOT-ELISA e 51% para a proteína C-reativa.<sup>33</sup>

Tabela 1 - Sinopse das principais publicações com o emprego de técnicas não convencionais em derrames pleurais em crianças e adolescentes

Autor	Nº pacientes ou Nº amostras	Testes realizados	Sensibilidade ou positividade (%)	Especificidade (%)
Requejo <i>et al</i> <sup>18</sup>	27	Hemocultura	19	NR
		CIE	100	NR
		<b>TAPL</b>	100	NR
Requejo <i>et al</i> <sup>19</sup>	442 casos 58 controles	<b>TAPL</b>	97,5	61,3
		Dot-Elisa	94	83
		CIE	87,5	79
		Cultura	14	NR
Monnier <i>et al</i> <sup>12</sup>	78 (40 casos de empiema pneumocócico)	<b>TAPL</b>	90	95
		Imunocromatografia	100	NR
		PCR-DNA	100	NR
		Cultura	58	NR
Eastham <i>et al</i> <sup>27</sup>	47	Cultura	6	NR
		<b>TAPL</b>	26	NR
		PCR	75	NR
Saglani <i>et al</i> <sup>1</sup>	32	PCR 16S rDNA	69	NR
		Cultura	18,7	NR
Andreo <i>et al</i> <sup>16</sup>	91 (19 casos de empiema pneumocócico)	CIE	21	NR
		Imunocromatografia	79	93,6
		Cultura	5	NR
		<b>TAPL</b>	98,5	95
Chandler <i>et al</i> <sup>15</sup>	209	Solubilidade em bile	98	100
		Teste de	100	100
		suscetibilidade a optoquina		

Lahti <i>et al</i> <sup>14</sup>	9	PCR DNA	100	100
		Cultura	11	NR
Ploton <i>et al</i> <sup>13</sup>	69	Imunocromatografia	100	33
		Cultura	22	NR
Boersma <i>et al</i> <sup>20</sup>	9	<b>TAPL</b>	89	92
		Cultura	11	NR
		Coloração pelo Gram	22	NR
Requejo e Coccoza <sup>33</sup>	265	Cultura	22	NR
		CIE	30	NR
		DOT-ELISA	42	NR
		Proteína C-reativa	51	NR

(NR – Não relatado)

O teste de PCR DNA é uma técnica de custo elevado, que sofre interferência do uso prévio de antibiótico, pois dependendo do tempo de lise da bactéria, o DNA se decompõem e não é possível amplificá-lo. Outra dificuldade desse teste é a presença de mais de um patógeno na amostra. Quando se faz a amplificação do DNA, o resultado não pode ser interpretado.

Com base nessas publicações, conclui-se que o teste de aglutinação de partículas de látex em amostras de derrame pleural apresenta uma boa sensibilidade e especificidade, quando comparado inclusive com exames bacteriológicos convencionais (coloração pelo Gram e cultura), e com aqueles mais sofisticados e de custo mais elevado, como PCR-DNA, imunocromatografia, entre outros.

### 3.7 Considerações finais

Atualmente, o teste de aglutinação de partículas de látex (TAPL) é muito utilizado na detecção de antígeno polissacarídeo capsular do *Streptococcus pneumoniae* e do *Haemophilus influenzae* tipo b para o diagnóstico rápido de meningites bacterianas em amostra de soro e líquido. É um método empregado em muitas unidades de saúde.<sup>21,22</sup>

Devido aos escassos recursos que países em desenvolvimento, como o Brasil, dispõem para a área de saúde, os resultados da presente revisão da literatura sugerem que o teste de aglutinação de partículas de látex se torna uma opção de técnica simples, de fácil execução, dispensando recursos humanos especializados e com custo acessível, além da pouca influência do uso prévio de antibacterianos (pois é muito comum o paciente com derrame pleural receber antibioticoterapia prévia à realização dos exames), e de alta efetividade no diagnóstico etiológico de derrame pleural.<sup>19, 22, 23</sup>

### 3.8 Referências bibliográficas

1. Saglani S, Harris KA, Wallis C, Hartley JC. Empyema: the use of broad range 16S rDNA PCR for pathogen detection. *Arch Dis Child* 2005; 90: 70–73.
2. Hernández-Bou S, García-García JJ, Esteva C, Gené A, Luaces C, Almagro CM. Pediatric parapneumonic pleural effusion: epidemiology, clinical characteristics, and microbiological diagnosis. *Pediatric Pulmonology* 2009; 44: 1192–1200.
3. Marchi E, Lundgren F, Mussi R. Parapneumonic effusion and empyema. *J Bras Pneumol*. 2006; 32 (4):S190-S196.
4. Venkatesan P, Macfarlane JT. Role of pneumococcal antigen in the diagnosis of pneumococcal pneumonia. *Thorax* 1992; 47: 329-31.
5. Kumar A, Kumar K. Rapid laboratory diagnosis of infectious diseases. *Prim Care* 1981; 8 (4): 593-604.
6. Bloomfield N, Oordon MS, Elmendorf DF Jr. Oetection of Cryptococcus neoformans antigen in body fluids by latex particle agglutination. *Proc Soc Exp Biol Med* 1963; 114: 64-7.
7. Coonrod JO, Rylko--Bauer. Latex agglutination in the diagnosis of pneumococcal infection. *J Clin Microbiol* 1976; 4: 168-74.
8. Adegbola RA, Obaro SK. Diagnosis of childhood pneumonia in the tropics. *Ann Trop Med Parasitol* 2000; 94 (3): 197-207.
9. Nunes AA, Camargos PAM, Costa PR, Campos MTK. Antigen Detection for the Diagnosis of Pneumonia. *Pediatric Pulmonology* 2004; 38: 1-5.
10. Balfour-Lynn IM, Abrahamson E, Cohen G, Hartley J, King S, Parikh D, et al. BTS guidelines for the management of pleural infection in children. *Thorax* 2005; 60: 1-21.
11. Rodrigues JC, Rozov T, Melles CE, Brandileone MC, Borcardin NB, Okay Y. Derrames pleurales parapneumónicos en la infancia: análisis de la importancia de los métodos de laboratorio en el diagnóstico etiológico. In: Benguigui Y, editor. *Investigaciones operativas sobre el control de las infecciones respiratorias agudas (IRA) en Brasil*. Washington, D.C.: OMS/OPAS; 1999; 173-90.

12. Monnier AL, Carbonnelle E, Zahar JR, Bourgeois ML, Abachin E, Quesne G, et al. Microbiological Diagnosis of Empyema in Children: Comparative Evaluations by Culture, Polymerase Chain Reaction, and Pneumococcal Antigen Detection in Pleural Fluids. *Clinical Infectious Diseases* 2006; 42:1135–40.
13. Ploton C, Freydiere AM, Benito Y, Bendridi N, Mazzocchi C, Bellon G, et al. *Streptococcus pneumoniae* thoracic empyema in children: rapid diagnosis by using the Binax NOW immunochromatographic membrane test in pleural fluids. *Pathologie Biologie* 2006; 54: 498–501.
14. Lahti E, Mertsola J, Kontiokari T, Eerola E, Ruuskanen O, Jalava J. Pneumolysin polymerase chain reaction for diagnosis of pneumococcal pneumonia and empyema in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25:783–789.
15. Chandler LJ, Reisner BS, Woods GL, Jafri AK. Comparison of four methods for identifying *Streptococcus pneumoniae*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2000; 37: 285–287.
16. Andreo F, Domínguez J, Ruiz-Manzano J, Prat C, Blanco S, Lores L, et al. Usefulness of pneumococcal antigen detection in pleural fluid samples by immunochromatographic assay for diagnosis of pneumococcal pneumonia. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 682–684.
17. Baranwal AK, Singh M, Marwaha RK, Kumar L. Empyema thoracis: a 10-year comparative review of hospitalised children from south Asia. *Arch Dis Child* 2003; 88: 1009–1014.
18. Requejo HIZ, Matsumoto TK, Lotufo JPB, Santos M, Oliveira Filho JF, Ribeiro TM, et al. Detecção de antígenos bacterianos em pneumonia aguda: métodos de preparação das amostras de urina, soro e líquido pleural para os testes de imunodiagnóstico. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 1991; 46 (1): 19-25.
19. Requejo HIZ, Alkmin MGA, Almeida RG, Casagrande ST, Cocozza AM, Lotufo JPB, et al. Dot-enzyme – linked immunosorbent assay (Dot-ELISA) for detection of pneumococcal polysaccharide antigens in pleural fluid effusion samples. Comparison with bacterial culture, counterimmunoelectrophoresis and latex agglutination. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1994; 36 (6): 531-537.

20. Boersma WG, Lowenberg A, Holloway Y et al. Rapid detection of pneumococcal antigen in pleural fluid of patients with community-acquired pneumonia. *Thorax* 1993; 48: 160–162
21. Camargos PAM, Almeida MS, Cardoso I, Filho GL, Filho D, Martins JI, et al. Látex particle agglutination test in the diagnosis of *Haemophilus influenzae type b*, *Streptococcus pneumoniae* and *Neisseria meningitidis* A and C meningitis in infants and children. *J Clin Epidemiol* 1995; 48 (10): 1245-1250.
22. Scheifele DW, Ward JI, Siber GR. Advantage of latex agglutination over countercurrent immunoelectrophoresis in the detection of *Haemophilus influenzae type b* antigen in serum. *Pediatrics* 1981; 68 (6): 888-891.
23. Isaacs D. Problems in determining the etiology of community-acquired childhood pneumonia. *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8: 143-148.
24. Ahmad OB, Lopez AD, Inoue M. 'The Decline in Child Mortality: A reappraisal', *Bulletin of the World Health Organization* 2000, vol. 78, no. 10.
25. Shapiro ED. Epidemiology of acute respiratory infections. *Semin Pediatr Infect Dis* 1998; 9 (1): 31-36.
26. Rodrigues JC, Filho LVFS, Bush A. Etiological diagnosis of pneumonia – a critical view. *J Pediatr (Rio J)* 2002; 78 (2): S129-S140.
27. Eastham KM, Freeman R, Clark J, et al. Clinical features, aetiology and outcome of empyema in North East of England. *Thorax* 2004; 59: 522-5.
28. Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria Nacional de Ações Básicas de Saúde, Divisão Nacional de Laboratório de Saúde Pública. Normas Técnicas para o Diagnóstico das Meningites Bacterianas; Brasília – Centro de Documentação do Ministério da Saúde, pg 49, 1986.
29. Nunes AA, Camargos PAM. Diagnóstico etiológico de pneumonias bacterianas comunitárias e empiemas em crianças e adolescentes: o papel do teste de aglutinação de partículas de látex. *Acta Pediatrca Portuguesa*, 2005; 36 (1): 5-13.
30. Ward N, Siber OR, Scheifele OW, Smith OH. Rapid diagnosis of *Haemophilus influenzae type b* infections by latex particle agglutination and counterimmunoelectrophoresis. *J Pediatr* 1978; 93 (1): 37-42.
31. Kumar A, Congeni BL, Nankervis OA. Latex agglutination test for rapid detection of bacterial antigens in body fluids. *Ann Clin Lab Sei* 1980; 10

- (5): 377-82.
32. Oaun RS, Siber OR, Kamon JS, Russel RR. Evaluation of a comercial latex particle agglutination test for rapid diagnosis of Haemophilus influenzae type b infection. Pediatrics 1982; 69 (4): 466-71.
  33. Requejo HI Z, Cocoza AM. C-Reactive Protein in the Diagnosis of Community-Acquired Pneumonia. BJID 2003;7(4):241-244.

**4 ARTIGO 2 - DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DOS DERRAMES PLEURASIS  
ATRAVÉS DO TESTE DE AGLUTINAÇÃO DE PARTÍCULAS DE LÁTEX  
(TAPL)**

## 4.1 Resumo

**Introdução:** Um aumento na incidência de derrame pleural em crianças tem sido descrito desde a última década em alguns centros de pesquisas internacionais, talvez pelo uso inadequado de antibióticos, ou o atraso no diagnóstico, ou presença de agentes etiológicos incomuns. Segundo o Guidelines da Sociedade Britânica das Doenças do Tórax, a identificação do organismo infectante no líquido pleural varia de 8 a 76% de acordo com a técnica utilizada (cultura, coloração pelo Gram, reação em cadeia de polimerase).

**Objetivo:** Avaliar a aplicabilidade do teste de aglutinação de partículas de látex (TAPL) para detecção de antígenos dos diversos sorotipos de *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* tipo b em pacientes que apresentaram derrame pleural, através da comparação com o exame de contraímunoeletroforese (CIE).

**Métodos:** Entre 1996 e 2003, foram submetidas aos exames de TAPL e CIE 418 amostras de líquido pleural coletados de crianças e adolescentes menores de 18 anos com quadro clínico compatível com derrame parapneumônico ou empiema pleural.

**Resultados:** A sensibilidade e especificidade do TAPL, quando comparado com a CIE, foi 98,5% (IC 95% 92,5 - 99,9) e a 83,3% (IC95% 79,1 – 86,9), respectivamente; enquanto que os valores preditivos positivo e negativo foram, respectivamente, 52,0% (IC95% 43,2 – 60,7) e 99,7% (IC 95% 98,3- 99,9).

**Conclusões:** O TAPL, como teste imunodiagnóstico, é uma opção de técnica simples, de fácil execução, com custo acessível e de grande utilidade no diagnóstico etiológico de derrame pleural, além da pouca influencia do uso prévio de antibacterianos.

**Palavras-chave:** Derrame pleural, empiema, teste de aglutinação de partículas de látex, contraímunoeletroforese, diagnóstico etiológico.

## 4.2 Abstract

**Introduction:** An increase in the incidence of pleural effusion in children has been reported since the last decade in international research centers, perhaps due to inappropriate use of antibiotics, or delayed diagnosis, or presence of unusual etiologic agents. According to the Guidelines of the British Thorax Society, the identification of the infecting organism in the pleural fluid varies from 8 to 76% according to the technique used (culture, Gram stain, polymerase chain reaction).

**Objective:** To evaluate the applicability of the latex particle agglutination test (LPAT) to detect antigens of different serotypes of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b in patients with pleural effusion, through the comparison with the contraimmunoelectroforese (CIE).

**Methods:** Between 1996 and 2003, were collected and submitted to LPAT and CIE, 418 samples of pleural fluid from children and adolescents younger than 18 years of age with clinical symptoms compatible with parapneumonic effusion or pleural empyema.

**Results:** The sensitivity and specificity of LPAT compared with CIE were 98.5% (95% CI, 92.5 – 99.9) and 83.3% (95% CI, 79.1 – 86.9), respectively, while the positive and negative predictive values were respectively 52.0% (95% CI, 43.2 – 60.7) and 99.7% (95% CI, 98.3 - 99.9).

**Conclusions:** LPAT as an immunodiagnostic test is a simple technique, easy execution, cost-effective and useful in etiologic diagnosis of pleural effusion, beyond the little influence of the previous use of antibiotics.

**Keywords:** Pleural effusion, empyema, agglutination of latex particles, counterimmunoelectrophoresis, etiologic diagnosis.

### 4.3 Introdução

As principais causas de derrame pleural em crianças são as infecciosas, sobretudo os derrames para-pneumônicos e os empiemas. A tuberculose também é uma causa importante de derrame pleural nesses pacientes, principalmente nos países de alta prevalência da doença, como o Brasil.

A incidência de derrame pleural nas pneumonias varia de 25% a 44%, em pacientes internados, sendo sua presença considerada como um fator de pior prognóstico, com maior morbidade e mortalidade.<sup>1</sup>

Um aumento na incidência de derrame pleural em crianças tem sido descrito desde a última década em alguns centros de pesquisas internacionais, talvez pelo uso inadequado de antibióticos, ou o atraso no diagnóstico, ou presença de agentes etiológicos incomuns.<sup>2,3</sup>

A conduta frente ao derrame pleural é a toracocentese. Um dos objetivos desse procedimento é a obtenção de material para a identificação do agente etiológico. Na prática clínica o material colhido, geralmente, é enviado para análise bioquímica, cultura e coloração pelo Gram, que são considerados métodos convencionais. Em determinados serviços e países são realizados exames mais complexos, como reação em cadeia de polimerase (PCR) DNA, detecção de imunocomplexos circulantes, ELISA, imunocromatografia, contraímuno eletroforese (CIE), teste de aglutinação de partículas de látex (TAPL), entre outros.

Segundo o Guidelines da Sociedade Britânica das Doenças do Tórax, a identificação do organismo infectante no líquido pleural varia de 8 a 76% de acordo com a técnica utilizada (cultura, coloração pelo Gram, PCR-DNA). O uso de novas técnicas moleculares, como PCR, permite uma maior identificação do agente etiológico (em torno de 75%).<sup>6,11-16</sup>

O TAPL tem sido amplamente utilizado no diagnóstico etiológico de meningites bacterianas; é de fácil execução, técnica simples, baixo custo, boa sensibilidade, especificidade, e valores preditivos.<sup>7,11,18,19,28</sup> A aglutinação pode ser identificada a olho nu (como ocorre, por exemplo, no grupamento sanguíneo), não requer equipamentos especializado, é ágil (o resultado pode ser fornecido em 2 minutos), pode ser realizada em laboratórios de pequeno porte.

Especialmente em relação à utilização do TAPL no diagnóstico etiológico do derrame pleural, existem poucos artigos na literatura mundial, mas todos eles demonstram ser o TALP uma boa técnica com sensibilidade variando de 90-100% e especificidade de 61,3-95%.<sup>11, 18, 19</sup>

Este artigo tem como objetivo avaliar a aplicabilidade do teste de aglutinação de partículas de látex para detecção de antígenos polissacarídeos dos diversos sorotipos do *Streptococcus pneumoniae* e do *Haemophilus influenzae* tipo b em pacientes que apresentaram derrame pleural, através da comparação com o exame de contraímunoeletroforese (CIE).

#### 4.4 Material e Métodos

Entre 1996 e 2003, amostras de líquido pleural de 418 crianças e adolescentes internados em hospitais públicos de Belo Horizonte com quadro clínico-radiológico de derrame ou empiema pleural foram consecutivamente encaminhadas para a realização de CIE e TAPL no Laboratório Central de Saúde Pública da Fundação Ezequiel Dias (FUNED). Os técnicos (que não eram médicos) que realizaram cada um dos dois exames desconheciam o quadro clínico-radiológico de cada um dos pacientes, bem como os resultados dos exames que não estiveram sob sua responsabilidade.

A contraímunoeletroforese (CIE) foi escolhida como padrão de comparação por apresentar uma sensibilidade maior que a cultura de líquido pleural, tanto em nosso meio como na literatura. Andreo e colaboradores, por exemplo, encontraram sensibilidade de 5% para a cultura e 21% para a CIE<sup>15</sup>, ao passo que Requejo *et al*<sup>19</sup>, encontraram 14% para cultura e 45% para CIE. Por sua vez, Kalin e Lundberg encontraram 13% de pacientes com culturas positivas, ao passo que com a CIE foi 56%.<sup>29</sup> Todos esses autores utilizaram o mesmo antissoro para *Streptococcus pneumoniae* que o presente trabalho.

Definição de caso:

Crianças com contraímunoeletroforese positiva para *Streptococcus pneumoniae* ou *Haemophilus influenzae* tipo b nas amostras de líquido pleural

Definição de controle:

Crianças com contraímunoeletroforese negativa para *Streptococcus pneumoniae* ou *Haemophilus influenzae* tipo b nas amostras de líquido pleural

Critérios de inclusão:

Foram incluídas crianças e adolescentes menores de 18 anos, de ambos os sexos, que apresentavam derrame pleural ou empiema franco, e tinham indicação clínica formal de punção e/ou drenagem pleurais.

Critérios de exclusão:

Foram excluídas crianças cujo volume de líquido pleural colhido foi insuficiente para realização da CIE e TAPL.

##### 4.4.1 Técnicas laboratoriais

a) Contraímunoeletroforese (CIE)

A CIE, técnica escolhida como padrão de comparação, foi realizada conforme padronização do Ministério da Saúde para amostras de líquido, utilizando anti-soros anti-*Streptococcus pneumoniae* omniserum contra 85 sorotipos (anti-Pn) produzido pelo **Statens Seruminstitut** (Copenhague, Dinamarca) e anti-*Haemophilus influenzae* tipo b (anti-Hib) produzidos no Instituto Adolfo Lutz (São Paulo, Brasil).

A CIE foi realizada em fitas de acetato de celulose previamente conservadas em solução de metanol a 40%. Posteriormente, foram lavadas durante 10 minutos em solução-tampão de corrida eletroforética e secas entre folhas de papel-filtro. Para cada amostra testada pela CIE, foram aplicados anti-Hib e anti-Pn omniserum, na posição anódica, ao passo que a amostra de líquido pleural foi aplicada na posição catódica. Para auxiliar na comprovação de uma reação positiva ou negativa, antígenos de *Streptococcus pneumoniae* e de *Haemophilus influenzae* foram aplicados como controles positivos. A corrida eletroforética teve a duração de 10 minutos. As linhas de imunoprecipitação foram reveladas pela coloração em banho de 0,5 g% de negro de amido em ácido acético a 10% em solução de metanol:água (1:1).

Assim, ao entrarem em contato, a amostra contendo antígeno com o anti-soro, forma-se uma linha de precipitação que indica positividade da reação.

b) Teste de aglutinação de partículas de látex (TAPL)

O TAPL baseia-se na reação de aglutinação entre antígeno e anticorpo, evidenciada em uma placa de vidro. Foram utilizados kits Slidex-Meningite, comercializados pela BioMérieux<sup>a</sup> (Lyon, França), que contêm anticorpos polissacárides anticapsulares para 83 sorotipos de *Streptococcus pneumoniae* e para o *Haemophilus influenzae* tipo b fixados em partículas de látex. As amostras de líquido pleural foram diluídas a 1:4 em EDTA 0,1M pH 7,5, aquecidas a 100°C, por 5 minutos. Após esse tratamento as amostras foram centrifugadas a 2000 rpm por 5 minutos e os sobrenadantes utilizados para o teste de látex.

Numa reação positiva, os antígenos polissacárides se aglutinam com os anticorpos na superfície das partículas de látex previamente sensibilizadas com os anti-soros específicos. O tempo máximo de observação da reação foi de 2 minutos e considerou-se positiva a reação em que foi visualizado qualquer grau de aglutinação em um dos anti-soros.

#### *4.4.2 Análise estatística*

Pela ausência de trabalhos na literatura utilizando os cálculos de co-positividade e co-negatividade, optou-se por utilizar cálculos estatísticos de validação.

A sensibilidade, especificidade, valores preditivos (e seus respectivos intervalos de confiança a 95%) e as razões de verossimilhança do teste de aglutinação de partículas de látex para o diagnóstico etiológico de derrame pleural foram calculados a partir de sua comparação com os resultados verificados na contraímunoeletroforese.

Para efeito de cálculo desses indicadores, quando alguma das caselas tinha valor zero, elas foram substituídas pelo numeral 1 (um).

#### *4.4.3 Aspectos Éticos*

O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais com prévio acordo da Fundação Ezequiel Dias.

#### 4.5 Resultados

As características da população estudada são apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Características gerais da população estudada

Características	Casos		Controles	
	N	%	N	%
<b>Sexo</b>				
Masculino	41	64,1	194	54,8
Feminino	23	35,9	160	45,2
Total	64	100	354	100
<b>Faixa Etária</b>				
até 3 meses	zero	zero	09	2,5
3 meses a 5 anos	49	76,6	252	71,2
5 anos a 10 anos	12	18,7	64	18,1
10 anos a 18 anos	03	4,7	29	8,2
Total	64	100	354	100
<b>Resultados da CIE</b>				
<b>Positivos</b>	<b>64</b>		<b>NA</b>	
<i>S. pneumoniae</i>	45	70,3		
<i>H. influenzae</i> tipo b	19	29,7		
<b>Negativos</b>	<b>NA</b>		<b>354</b>	

(NA – Não se aplica)

Observa-se maior número de amostras de derrame pleural no sexo masculino e na faixa etária de 3 meses a 5 anos, o que está de acordo com a maior prevalência de pneumonia e derrame pleural nessa mesma faixa etária.

A tabela 2 contém a comparação entre os dois testes realizados na identificação de antígenos polissacarídeos de *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* tipo b nas 418 amostras analisadas.

Tabela 2. Comparação entre contraimunoeletroforese e teste de aglutinação de partículas de látex no diagnóstico etiológico dos derrames e empiemas pleurais causados pelo *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* tipo b

		Contraimunoeletroforese		
		POSITIVA	NEGATIVA	TOTAL
Teste de aglutinação de partículas de látex	POSITIVO	64	59	123
	NEGATIVO	Zero	295	295
	TOTAL	64	354	418

A sensibilidade do TAPL quando comparado com a CIE foi 98,5% (IC 95% 92,5 - 99,9) e a especificidade 83,3% (IC95% 79,1 – 86,9), enquanto que os valores preditivos positivo e negativo foram, respectivamente, 52,0% (IC95% 43,2 – 60,7) e 99,7% (IC 95% 98,3- 99,9).

Quando avaliado separadamente, a sensibilidade para cada um dos dois microorganismos foi a seguinte:

- para *Streptococcus pneumoniae* foi 97,8% (IC 95% 88,4 – 99,9). Sendo o valor preditivo positivo de 59,2% e o negativo 99,7% (IC 95% 98,1 – 100,0);
- em relação ao *Haemophilus influenzae* tipo b, os valores encontrados foram 95% de sensibilidade (IC 95% 75,1 – 99,9), sendo o valor preditivo positivo de 40,4% e o negativo de 99,7% (IC 95% 98,1 – 100,0).

A razão de verossimilhança positiva (ou razão de probabilidade diagnóstica positiva) do TAPL para o diagnóstico etiológico de derrame pleural para *Streptococcus pneumoniae* foi de 10,5 e para *Haemophilus influenzae* de 11,5, ou seja, é cerca de 10,5 a 11,5 vezes maior a chance do TALP ser

positivo na presença de derrame pleural por *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* do que nos derrames causados por outro patógeno.

Já a razão de verossimilhança negativa foi de 0,02 para *Streptococcus pneumoniae* e de 0,05 para *Haemophilus influenzae* tipo b, o que significa dizer uma chance muito baixa do TAPL ser negativo para esses agentes quando eles forem os causadores do derrame pleural (resultado falso negativo).

## 4.6 Discussão

O diagnóstico etiológico dos derrames pleurais através de métodos clássicos representa um problema na prática clínica, mesmo em nações desenvolvidas. O grande número de técnicas de imunodiagnóstico e a recente introdução de métodos de biologia molecular para tal finalidade corroboram essa observação.<sup>5</sup>

As técnicas bacteriológicas convencionais (coloração pelo Gram e cultura), independentemente do fluido corporal, obtidos por qualquer meio ou local, tem limitada contribuição para o diagnóstico etiológico dos derrames pleurais, pois a positividade não ultrapassa 50% - 60%.<sup>7</sup> A cultura, principalmente, sofre interferência de fatores tais como o uso de antibioticoterapia prévia, coleta e transporte inadequados, todos eles concorrendo para a inibição do crescimento bacteriano. Associa-se a isto a necessidade deste método laboratorial requerer vários dias para se obter o resultado final.<sup>8</sup> No presente estudo, conduzido em um ambiente que é a realidade do sistema público de saúde brasileiro que poderia comprometer ainda mais o rendimento da cultura de líquido pleural, optou-se por não adotar esta técnica clássica como padrão de comparação.

A CIE como o TAPL demonstram maior sensibilidade quando comparadas com a cultura porque os antígenos capsulares, polissacarídeos solúveis, presentes no líquido pleural, são termoestáveis, mesmo após vários dias de uso de antibióticos, ou sob acondicionamento e transporte em condições adversas.<sup>8,18,19</sup>

O método de comparação escolhido no trabalho não é um dos melhores, pois sua sensibilidade quando comparada a outros métodos imunquímicos, como PCR-DNA, Dot-ELISA, e mesmo ao TAPL é mais baixa.<sup>15,19,30</sup> Porém, tendo em vista os métodos disponíveis e por ser mais específico que o TAPL, a contraímunoelctroforese foi a técnica mais viável a ser utilizada.

O presente estudo utilizou os mesmos soros anti-*Streptococcus pneumoniae* e anti-*Haemophilus influenzae* tipo b que os demais trabalhos da literatura mundial, porém apresenta um número de amostras superior aos que utilizaram o TAPL em sua metodologia, com exceção apenas do trabalho de Requejo *et al*<sup>19</sup>.

É interessante observar que das 418 amostras, tem-se um total de 123 positivas à CIE e/ou TAPL, ou seja, somente 30% das amostras foram positivas. Apesar de todos os pacientes apresentarem quadro clínico de derrame pleural, outros agentes etiológicos podem ter contribuído para o maior número de testes negativos, como é o caso do *Mycoplasma pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *H. influenzae* não tipáveis e *Mycobacterium tuberculosis*. Além do que, os testes utilizados podem sofrer alguma influencia do tempo de coleta da amostra e de uso de antibióticos; se este for muito prolongado leva à perda dos antígenos, podendo o teste dar falso-negativo.

Outro dado que chama a atenção é o maior número de amostras positivas ao TAPL do que à CIE. Isto pode ser explicado, em parte, pelo fenômeno prozona, ou seja, amostras com títulos altos de antígenos que impedem a reação (por saturação dos locais de ligação) e o resultado se torna negativo. Isso ocorre menos com o TAPL, pois a amostra é diluída com ETDA.<sup>8,18</sup> É possível ainda que a titulação de anticorpos fixados nas partículas de látex guardem uma relação mais otimizada que a CIE em relação à concentração de antígenos no líquido pleural, pois, no Brasil e em outros países, a CIE foi concebida, originalmente, para identificação de antígenos de *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* tipo b no líquido para o diagnóstico etiológico das meningites purulentas. Infelizmente não identicou-se na revisão da literatura estudo que tivesse demonstrado se a concentração de antígenos no líquido é superior ou inferior àquela do líquido pleural. Por outro lado, a literatura dispõe de vários estudos que demonstram uma sensibilidade maior do TAPL em relação à CIE. Por ser o exame de TAPL baseado em reação de aglutinação, esse se torna mais sensível que a CIE que se baseia em reação de precipitação, pois necessita de uma presença menor de antígenos para sua posituação.<sup>14, 15,18,19</sup>

No presente estudo, o TAPL apresentou valores de sensibilidade e especificidade comparáveis com os encontrados na literatura. Vale ressaltar que o valor preditivo negativo de 99,7%, como a razão de verossimilhança negativa, indicam que um TAPL negativo leva o profissional a pensar em outras possibilidades etiológicas para o derrame ou empiema pleural.

Em 1991, Requejo e cols<sup>18</sup> conduziram estudo no qual pesquisaram a existência de antígenos bacterianos em amostras de urina, soro e líquido pleural; e submeteram essas amostras ao TAPL e à CIE. Foram selecionadas

crianças de zero a 12 anos de idade com pneumonia comunitária, 27 amostras de líquido pleural foram pesquisadas. Foram realizados o TAPL e o CIE em líquido pleural (27 amostras), a sensibilidade foi de 100% para ambos os testes. A hemocultura mostrou sensibilidade de 19,3%. A referida pesquisa apresenta-se com metodologia minuciosamente detalhada, bem como descrição clara e objetiva dos resultados, trazendo o TAPL em amostras de derrame pleural, como teste de imunodiagnóstico com rentabilidade semelhante em relação à CIE e superior a hemocultura no diagnóstico etiológico rápido e confiável de pneumonias comunitárias.

Propondo determinar a rentabilidade de técnicas de imunodiagnóstico em estabelecer a etiologia de pneumonias comunitárias, Requejo e cols<sup>19</sup> em 1994 pesquisaram o TAPL, a CIE e o Dot-ELISA em amostras de líquido pleural de crianças de zero a 12 anos de idade com achados clínicos, laboratoriais e radiológicos sugestivos de quadro bacteriano. E com a finalidade de estudar a especificidade dos testes, amostras do referido fluido biológico de pacientes com tuberculose e de sangue de outras crianças saudáveis foram obtidas; culturas de todas as amostras foram realizadas. Os autores focaram a pesquisa nas propriedades do Dot-ELISA, e assim consideraram para fins de comparação, o TAPL, a CIE e a cultura, como "padrões de referência". A cultura de líquido pleural apresentou 14,5% de isolamento, com 40 casos positivos para *S. pneumoniae*, 21 para *Hib* e três para *S. aureus*. O estudo acima contou com uma grande casuística, permitindo a observação segura de que em termos de sensibilidade, o TAPL (97,5%), em amostras de líquido pleural, mostrou-se ligeiramente superior à técnica central da pesquisa - Dot-ELISA- (94%) e também à CIE (87,5%); quando a especificidade é analisada, estes dois últimos testes rendem melhores resultados.

Le Monnier *et al*<sup>11</sup> coletaram amostras de 78 crianças com derrame pleural com idade média de 3,9 anos e realizaram os seguintes testes: cultura convencional, TAPL, imunocromatografia e reação em cadeia de polimerase 16S rDNA. Das amostras selecionadas, 40 eram de empiemas pneumocócicos. Dentre essas, a cultura foi positiva em 23 (56%); a coloração pelo Gram em 28 (70%); a aglutinação de partículas de látex em 36 amostras (90%); hemocultura positiva em 14 (35%); e o PCR DNA em todas as 40 amostras (100%). A sensibilidade e especificidade do TAPL, quando comparado com cultura e/ou PCR, foi de 90% e 95%, respectivamente.

Devido aos escassos recursos que países em desenvolvimento, como o Brasil, dispõem para a área de saúde, e considerando que, teoricamente, boa parte dos Laboratórios de Saúde Pública dispõe desse recurso para o diagnóstico etiológico rotineiro das meningites bacteriana, o TAPL se torna uma opção de técnica simples, de fácil execução, dispensando recursos humanos especializados e com custo acessível, de grande utilidade no diagnóstico etiológico de derrame pleural, além da pouca influencia do uso prévio de antibacterianos, pois em nosso meio é muito comum o paciente com derrame pleural receber antibioticoterapia prévia à realização dos exames.<sup>19, 21, 22</sup>

#### 4.7 Referências bibliográficas

- 1- Marchi E, Lundgren F, Mussi R. Parapneumonic effusion and empyema. *J Bras Pneumol*. 2006; 32(4):S190-S196.
- 2- Saglani S, Harris K A, Wallis C, Hartley J C. Empyema: the use of broad range 16S rDNA PCR for pathogen detection. *Arch Dis Child* 2005; 90: 70–73.
- 3- Hernández-Bou S, García-García JJ, Esteva C, Gené A, Luaces C, Almagro CM. Pediatric Parapneumonic Pleural Effusion: Epidemiology, Clinical Characteristics, and Microbiological Diagnosis. *Pediatric Pulmonology* 2009; 44:1192–1200.
- 4- Adegbola RA, Obaro SK. Diagnosis of childhood pneumonia in the tropics. *Ann Trop Med Parasitol* 2000; 94 (3): 197-207.
- 5- Rodrigues JC, Filho LVFS, Bush A. Etiological diagnosis of pneumonia – a critical view. *J Pediatr (Rio J)* 2002; 78 (2): S129-S140.
- 6- Balfour-Lynn IM, Abrahamson E, Cohen G, Hartley J, King S, Parikh D, et al. BTS guidelines for the management of pleural infection in children. *Thorax* 2005; 60: 1-21.
- 7- Nunes AA, Camargos PAM, Costa PR, Campos MTK. Antigen Detection for the Diagnosis of Pneumonia. *Pediatric Pulmonology* 2004; 38: 1-5.
- 8- Benfica MGA, Cardoso ICRA, Filho GL, Vieira CB, Chamone CB. Importance of the laboratory diagnosis of acute bacterial pneumonia in childhood. *RBAC* 1998; 30 (3): 159-160.
- 9- Rodrigues JC, Rozov T, Melles CE, Brandileone MC, Borcardin NB, Okay Y. Derrames pleurales parapneumónicos en la infancia: análisis de la importancia de los métodos de laboratorio en el diagnóstico etiológico. In: Benguigui Y, editor. *Investigaciones operativas sobre el control de las infecciones respiratorias agudas (IRA) en Brasil*. Washington, D.C.: OMS/OPAS; 1999; 173-90.
- 10-Eastham KM, Freeman R, Clark J, et al. Clinical features, aetiology and outcome of empyema in North East of England. *Thorax* 2004; 59: 522-5.
- 11-Monnier AL, Carbonnelle E, Zahar JR, Bourgeois ML, Abachin E, Quesne G, et al. Microbiological Diagnosis of Empyema in Children:

- Comparative Evaluations by Culture, Polymerase Chain Reaction, and Pneumococcal Antigen Detection in Pleural Fluids. *Clinical Infectious Diseases* 2006; 42:1135–40.
- 12-Ploton C, Freydiere AM, Benito Y, Bendridi N, Mazzocchi C, Bellon G, et al. *Streptococcus pneumoniae* thoracic empyema in children: rapid diagnosis by using the Binax NOW immunochromatographic membrane test in pleural fluids. *Pathologie Biologie* 2006; 54: 498–501.
- 13-Lahti E, Mertsola J, Kontiokari T, Eerola E, Ruuskanen O, Jalava J. Pneumolysin polymerase chain reaction for diagnosis of pneumococcal pneumonia and empyema in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25:783–789.
- 14-Chandler LJ, Reisner BS, Woods GL, Jafri AK. Comparison of four methods for identifying *Streptococcus pneumoniae*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2000; 37: 285–287.
- 15-Andreo F, Domínguez J, Ruiz-Manzano J, Prat C, Blanco S, Lores L, et al. Usefulness of pneumococcal antigen detection in pleural fluid samples by immunochromatographic assay for diagnosis of pneumococcal pneumonia. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 682–684.
- 16-Baranwal A K, Singh M, Marwaha R K, Kumar L. Empyema thoracis: a 10-year comparative review of hospitalised children from south Asia. *Arch Dis Child* 2003; 88: 1009–1014.
- 17- Ahmad OB, Lopez AD, Inoue M. 'The Decline in Child Mortality: A reappraisal', *Bulletin of the World Health Organization* 2000, vol. 78, no. 10.
- 18- Requejo HIZ, Matsumoto TK, Lotufo JPB, Santos M, Oliveira Filho JF, Ribeiro TM, et al. Detecção de antígenos bacterianos em pneumonia aguda: métodos de preparação das amostras de urina, soro e líquido pleural para os testes de imunodiagnóstico. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 1991; 46 (1): 19-25.
- 19- Requejo HIZ, Alkmin MGA, Almeida RG, Casagrande ST, Cocozza AM, Lotufo JPB, et al. Dot-enzyme – linked immunosorbent assay (Dot-ELISA) for detection of pneumococcal polysaccharide antigens in pleural fluid effusion samples. Comparison with bacterial culture, counterimmunoelectrophoresis and latex agglutination. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1994; 36 (6): 531-537.

- 20- Camargos PAM, Almeida MS, Cardoso I, Filho GL, Filho D, Martins JI, et al. Látex particle agglutination test in the diagnosis of *Haemophilus influenzae type b*, *Streptococcus pneumoniae* and *Neisseria meningitidis* A and C meningitis in infants and children. *J Clin Epidemiol* 1995; 48 (10): 1245-1250.
- 21- Scheifele DW, Ward JI, Siber GR. Advantage of latex agglutination over countercurrent immunoelectrophoresis in the detection of *Haemophilus influenzae type b* antigen in serum. *Pediatrics* 1981; 68 (6): 888-891.
- 22- Isaacs D. Problems in determining the etiology of community-acquired childhood pneumonia. *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8: 143-148.
- 23- Ward N, Siber OR, Scheifele OW, Smith OH. Rapid diagnosis of *Haemophilus influenzae type b* infections by latex particle agglutination and counterimmunoelectrophoresis. *J Pediatr* 1978; 93 (1): 37-42.
- 24- Boersma WG, Lowenberg A, Holloway Y et al. Rapid detection of pneumococcal antigen in pleural fluid of patients with community-acquired pneumonia. *Thorax* 1993; 48:160-162.
- 25- Coonrod JO, Rylko-Bauer. Latex agglutination in the diagnosis of pneumococcal infection. *J Clin Microbiol* 1976; 4: 168-74.
- 26- Kumar A, Congeni BL, Nankervis OA. Latex agglutination test for rapid detection of bacterial antigens in body fluids. *Ann Clin Lab Sci* 1980; 10 (5): 377-82.
- 27- Oaum RS, Siber OR, Kamon JS, Russel RR. Evaluation of a commercial latex particle agglutination test for rapid diagnosis of *Haemophilus influenzae type b* infection. *Pediatrics* 1982; 69 (4): 466-71.
- 28- Nunes AA, Camargos PAM. Diagnóstico etiológico de pneumonias bacterianas comunitárias e empiemas em crianças e adolescentes: o papel do teste de aglutinação de partículas de látex. *Acta Pediatrca Portuguesa*, 2005; 36 (1): 5-13.
- 29- Kalin M, Lindberg AA. Diagnosis of pneumococcal pneumonia: a comparison between microscopic examination of expectorate, antigen detection and cultural procedures. *Scand J Infect Dis* 1983; 15: 247-255.
- 30- Requejo HI Z, Coccoza AM. C-Reactive Protein in the Diagnosis of Community-Acquired Pneumonia. *BJID* 2003;7(4):241-244.

## 5. Considerações Finais

Após a revisão bibliográfica e a realização do presente estudo fica demonstrada a importância do teste de aglutinação de partículas de látex no diagnóstico etiológico do derrame pleural em nosso meio. O fato de ser um exame de baixo custo, fácil realização e resultado rápido, facilita sua implantação nos locais onde a população é atendida, mesmo porque a grande maioria desses locais já realiza o TAPL em amostras de líquido, quando se tem suspeita de meningite bacteriana.

Em nosso trabalho não encontramos nenhum ponto desfavorável ao uso do TAPL no líquido pleural. Seria interessante que mais estudos fossem realizados para podermos validar a técnica do TAPL no líquido pleural e dessa forma incluí-lo em nossos laboratórios como um exame rotineiro, pois sua utilização em muito ajudaria na redução do uso desnecessário, como na prescrição correta de antibacterianos na prática clínica.

**6. Anexo 1 - Protocolo de Estudo**

AMOSTRA DE LÍQUIDO PLEURAL Nº \_\_\_\_\_

Ano de coleta: \_\_\_\_\_

Idade do paciente: \_\_\_\_\_

Sexo: \_\_\_\_ Masc \_\_\_\_ Fem

Resultado:

	S. pneumoniae	H.influenzae
CIE		
TAPL		

P= POSITIVO

N= NEGATIVO

CIE – Contraimunoeletroforese

TAPL – Teste de aglutinação de partículas de látex

## 7. Anexo 2 - Figuras

### TESTE DE AGLUTINAÇÃO DE PARTÍCULAS DE LÁTEX



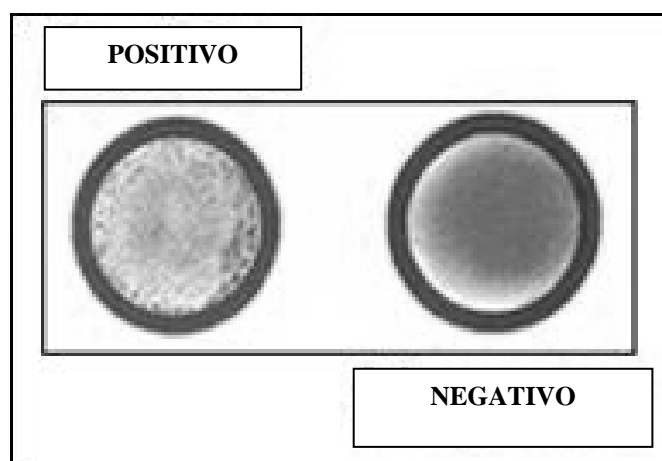
Uma quantidade da amostra pesquisada contendo antígenos é colocada na placa.



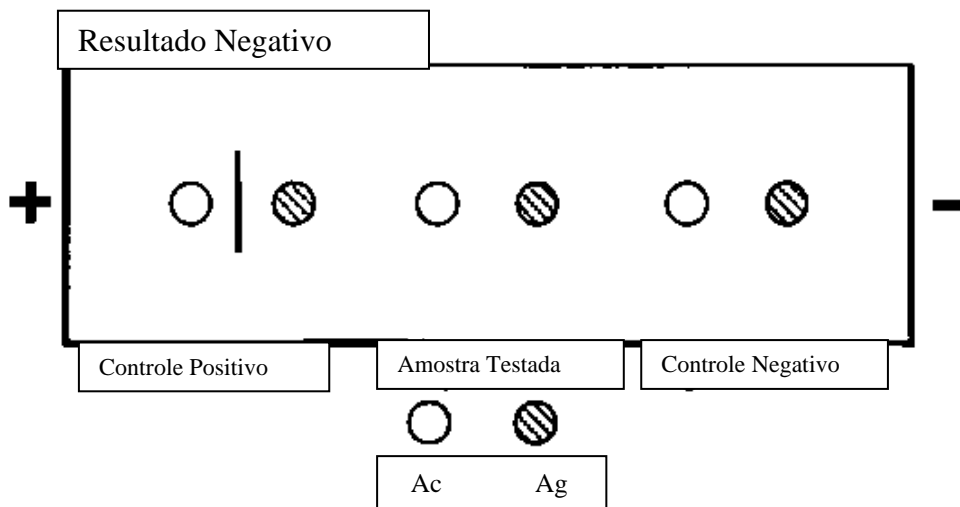
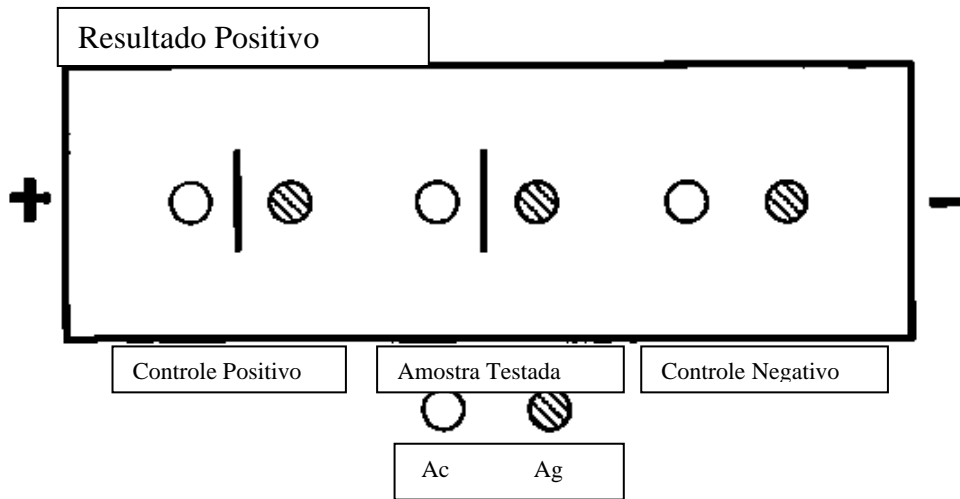
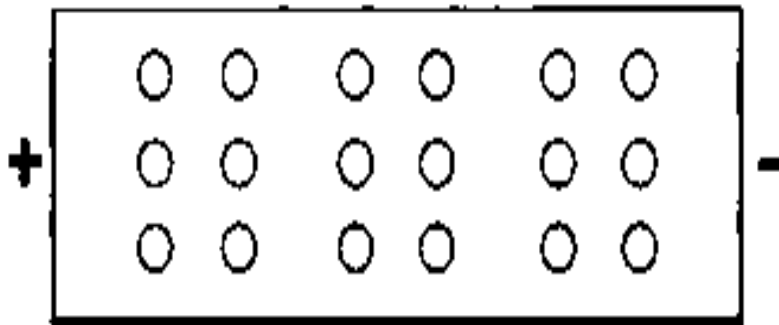
Uma solução contendo os anticorpos específicos fixados às partículas de látex é adicionada à placa juntamente com a amostra pesquisada.



Homogeneiza-se suavemente as duas soluções para que ocorra a reação. Se os antígenos pesquisados estiverem presentes na amostra ocorrerá um aglutinação visível a olho nu. Se os antígenos não estiverem presentes não ocorrerá mudança na textura da solução na placa.



**CONTRAIMUNOELETROFORESE**



Ac – Anticorpo

Ag - Antígeno

**8. Anexo 3 – Tabela de Procedimentos do SUS**

<b>Exame</b>	<b>Código</b>	<b>Valor (R\$)</b>
Hemocultura	020208015-3	11,49
Cultura p/ identificação de bactérias	020208008-0	5,62
Antibiograma	020208001-3	4,98
Bacterioscopia (Gram)	020208007-2	2,80
Prova do Látex p/ Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis (sorotipos A, B, C)	020209029-9	1,89

DATASUS/ SIGTAP – 01/2010