

III Congresso Nacional Ciências Biomédicas Laboratoriais



IMPACTO DO USO DE FUCSINA BÁSICA AQUOSA NA DETEÇÃO DE BACILOS ÁLCOOL-ÁCIDO RESISTENTES

Autores: Gomes, A.¹; Amaral, P.¹; Santos, R.¹; Santos, S. ; Tortosa, F. ;
Mendonça, P.¹; Marques-Ramos, A.^{1,2}.

¹ - Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, ESTeSL-IPL

² - H&TRC - Centro de Investigação em Saúde e Tecnologia - ana.ramos@estesl.ipl.pt

➤ Introdução

Tuberculose

Infeção com maior mortalidade a nível mundial em 2016¹



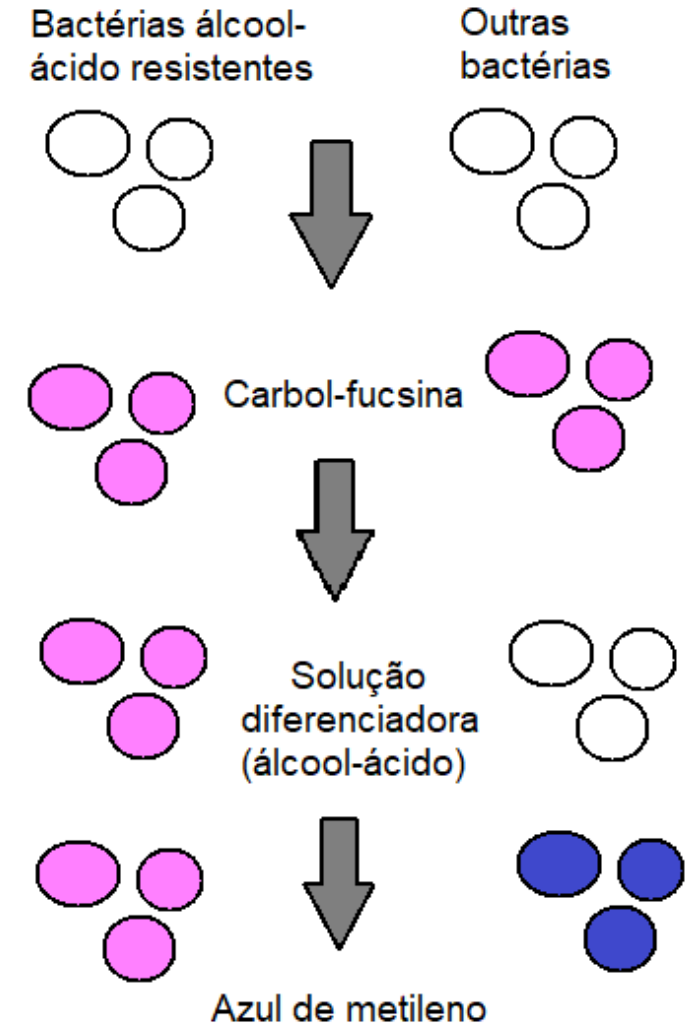
Causada pelo bacilo de Kock (BK) ou *Mycobacterium tuberculosis*¹

Técnica de Ziehl-Neelsen

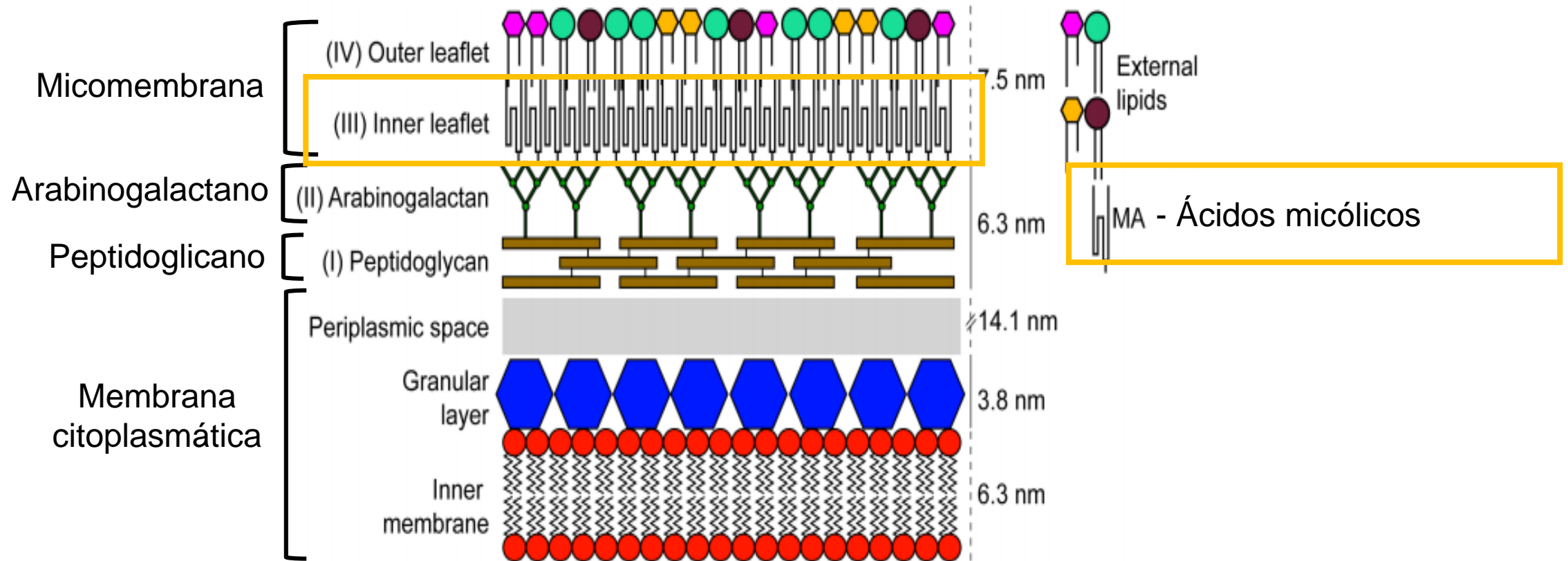
Evidenciar bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR)²

Carbol-Fucsina

Solução composta por fenol e fucsina básica, evidencia BAAR a rosa³



➤ Introdução



Camadas que constituem o envelope celular das BAAR.

Fonte: Vincent AT, Nyongesa S, Morneau I, Reed MB, Tocheva EI, Veyrier FJ. The Mycobacterial Cell Envelope: A Relict From the Past or the Result of Recent Evolution?. Front Microbiol. 2018.

➤ Introdução

Carbol-fucsina aquecida (com ácido carbólico ou fenol)



Libertação de **vapores** fenólicos

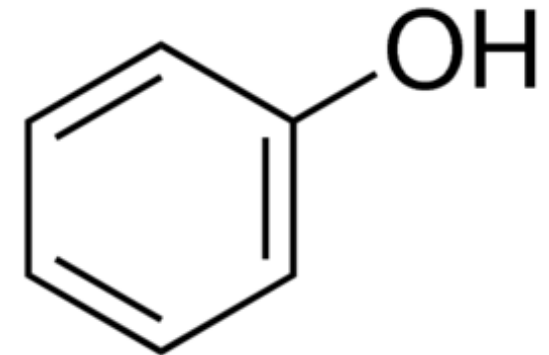
Efeitos adversos do fenol^{4,5} :

Urina com tonalidade escura;

Dores de cabeça e tonturas;

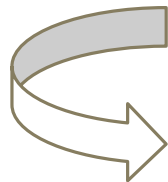
Acidose metabólica;

Edema pulmonar.



Estrutura química do fenol.

Uso
alternativo



Fucsina básica aquosa aquecida

➤ Objetivo e hipótese

✓ Objetivo geral

Determinar a capacidade de deteção da técnica de Ziehl-Neelsen (ZN) sem o uso de fenol.



Hipótese investigacional

Tendo por base dois estudos já realizados^{6,7} → É possível suprimir o fenol na técnica de ZN, através do uso de fucsina básica aquosa, sem afetar a capacidade de deteção de BAAR.

➤ Amostra e objetos de estudo

20 amostras

13 casos com diagnóstico
prévio e encerrado por
Mycobacterium tuberculosis

7 casos não patológicos
(negativos para a
presença de BAAR)

Objetos de estudo: 2 cortes seriados (3 μ m) de cada um dos casos



40 cortes histológicos fixados em
formol e impregnados em parafina

➤ Desenho de estudo

- 26 cortes de 13 tecidos humanos com diagnóstico prévio de tuberculose
 - 14 cortes de 7 tecidos humanos não patológicos
 - 2 cortes de Zebrafish infetado com *M. Marinum* (controlo positivo)

Grupo I (21 lâminas)
Carbol-Fucsina a 1%
(37°C, 15 minutos)

Grupo II (21 lâminas)
Fucsina básica aquosa a 1%
(37°C, 15 minutos)

Diferenciação em álcool ácido a 1% (com controlo microscópico)

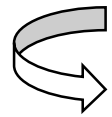
Contraste com azul de metileno 5%

Verificação da presença de bacilos nas lâminas ictiológicas

Avaliação microscópica (400x):
positivo (presença de bacilos) ou negativo (ausência de bacilos)

➤ Resultados

Dois patologistas apresentaram **concordância de 92,3%**



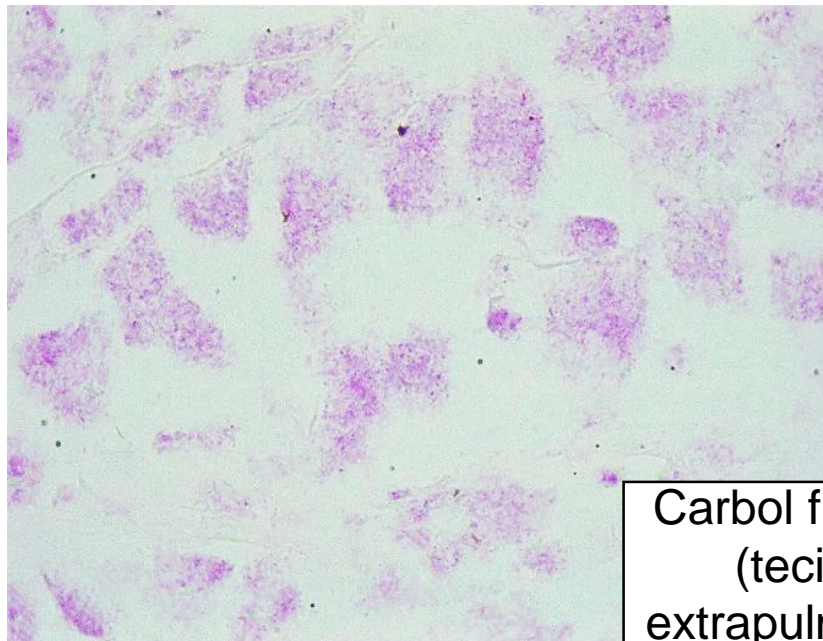
Um caso não está em concordância ⇒ Excluído da análise estatística

Total de 12 casos com diagnóstico prévio de tuberculose

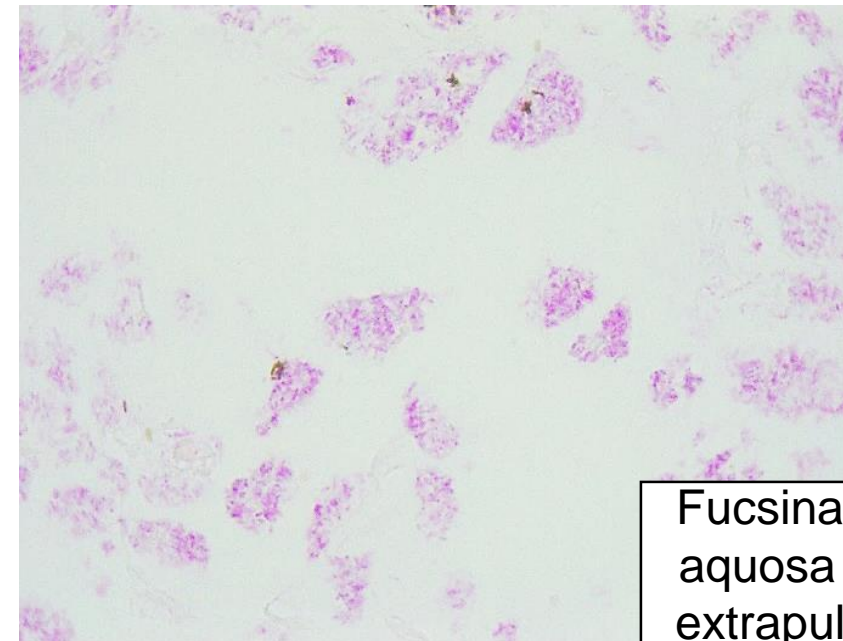
➔ Avaliadores consideram que a fucsina básica aquosa incrementa a visualização bacilar em relação à carbol-fucsina

Resultados

	Fucsina básica aquosa		Carbol-fucsina	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Casos com tuberculose	12	0	11	1
Casos não patológicos	0	7	0	7
Total	12	7	11	8



Carbol fucsina
(tecido
extrapulmonar)

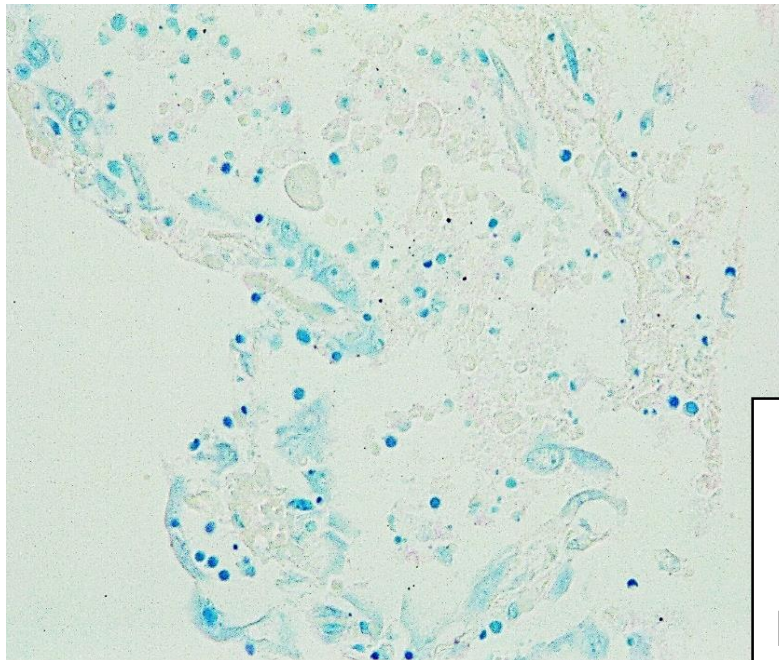


Fucsina básica
aquosa (tecido
extrapulmonar)

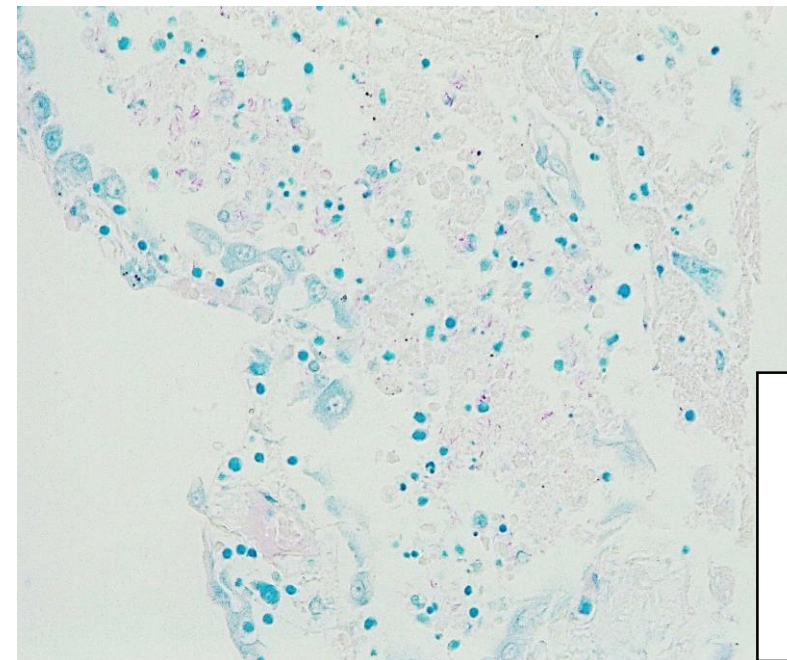
➤ Resultados

Coloração bacilar
mais intensa e
ligeiro fundo com
fucsina básica
aquosa (FBA)

- Concentração de FBA (1%) mais elevada que noutros artigos ^{6,7}
- Diferenciação insuficiente → presença de fundo não dificultou a avaliação bacilar



Carbol
fucsina
(tecido
pulmonar)



Fucsina
básica
aquosa
(tecido
pulmonar)

➤ Resultados

Diferença não é estatisticamente significativa

$X^2=3,84$; $p \text{ value} > 0,05$;
teste do qui-quadrado
de McNemar

Capacidade de deteção semelhante

Apoia a hipótese investigacional colocada

É possível suprimir o fenol na técnica de Ziehl-Neelsen, sem afetar a capacidade de deteção bacilar.

➤ Conclusões

Lamanna, C.⁸

- Apoia-se a teoria proposta para a atuação da carbol-fucsina



AMERICAN
SOCIETY FOR
MICROBIOLOGY

Journal of
Bacteriology®

THE NATURE OF THE ACID-FAST STAIN

CARL LAMANNA

Camp Detrick, Frederick, Maryland¹

Received for publication April 1, 1946

A satisfactory explanation of the nature of the Ziehl-Neelsen stain remains to be formulated. It is agreed that disruption of the cell membrane by chemical or physical means is accompanied by a loss of acid-fastness (Long, 1922-23;

➤ Conclusões



Resultados obtidos entre a carbol-fucsina (CF) e fucsina básica aquosa (FBA) não apresentam diferença estatisticamente significativa



FBA pode, eventualmente, substituir CF na rotina sem detrimento da visualização bacilar



Possibilidade de omitir o fenol permite reduzir as consequências para a saúde dos técnicos

III Congresso Nacional Ciências Biomédicas Laboratoriais



Journal: Histochemistry and Cell Biology
DOI: 10.1007/s00418-019-01825-0

GASMoC METHOD: A PHENOL-FREE TECHNIQUE TO DETECT ACID-FAST BACILLI

Autores: Gomes, A.¹; Amaral, P.¹; Santos, R.¹; Santos, S. ; Tortosa, F. ;
Mendonça, P.¹; Marques-Ramos, A.^{1,2}.

Contato eletrónico: 2015437@alunos.estesl.ipl.pt



Lisboa, 26 Outubro de 2019





Referências bibliográficas

1. World Health Organization. The top 10 causes of death. <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. Published 2018. Acedido Novembro 25, 2018.
2. Ryu YJ. Diagnosis of pulmonary tuberculosis: recent advances and diagnostic algorithms. *Tuberc Respir Dis (Seoul)*. 2015;78(2):64–71. doi:10.4046/trd.2015.78.2.64
3. Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*.; 2013. doi:10.1016/B978-0-7020-4226-00002-0
4. World Health Organization. *Phenol: health and safety guide*.; 1994. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39958/9241510889eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
5. ROTH. European Community Safety data sheet: Phenol. Alemanha; 2016.
6. Speranza V Della, Fail R. Phenol Myth Unveiled! Were Ziehl-Neelsen and Kinyoun Mistaken? *Histol Tech Bullet info Histotechn*. Novembro 2000:21–23.
7. McCollough C. Application of an aqueous acid-fast staining technique to detect pathogens of aquatic species. *Biotech Histochem*. 2008;83(3–4):191–197. doi:10.1080/10520290802450780.
8. Lamanna C. The Nature of the Acid-fast Stain. *J Bacteriol*. 1946;52(1):99–103. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16561158>.