

Método GASMoC: uma técnica para detetar bacilos álcool ácido-resistentes sem fenol

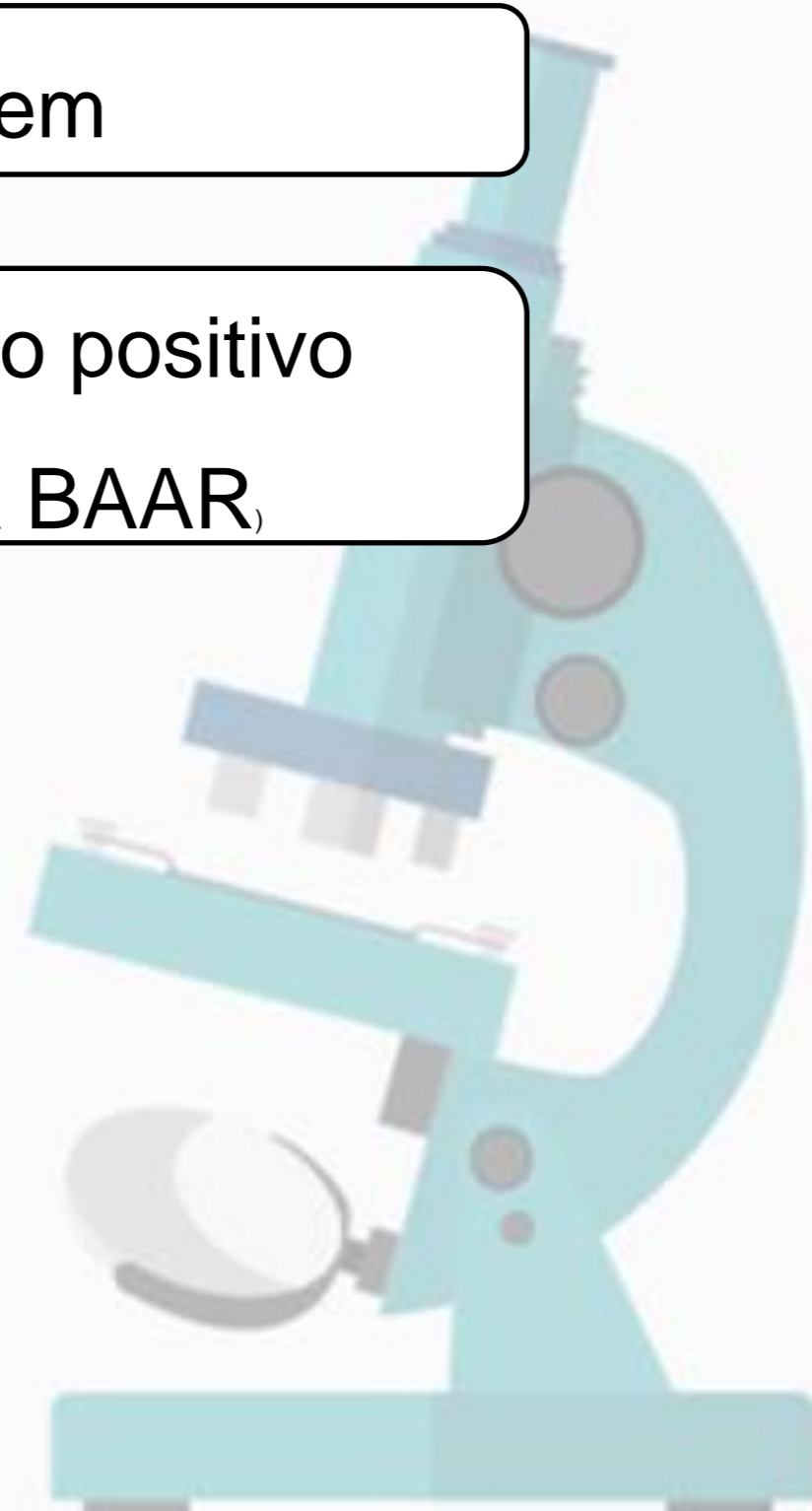
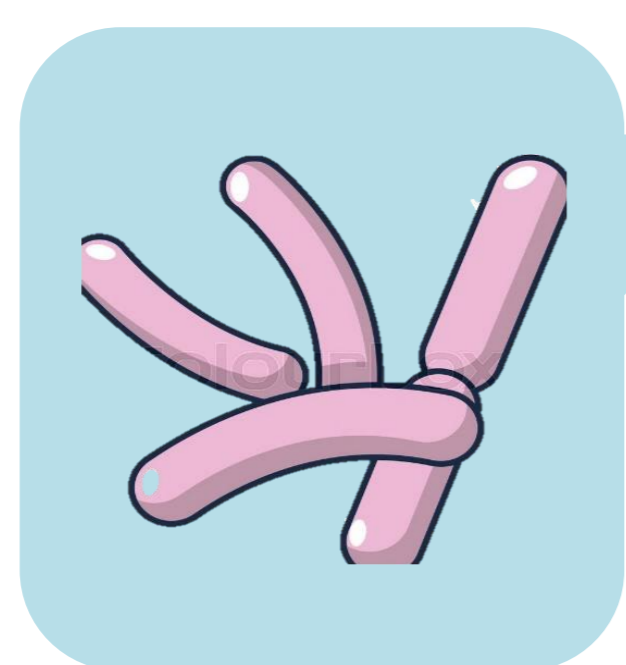
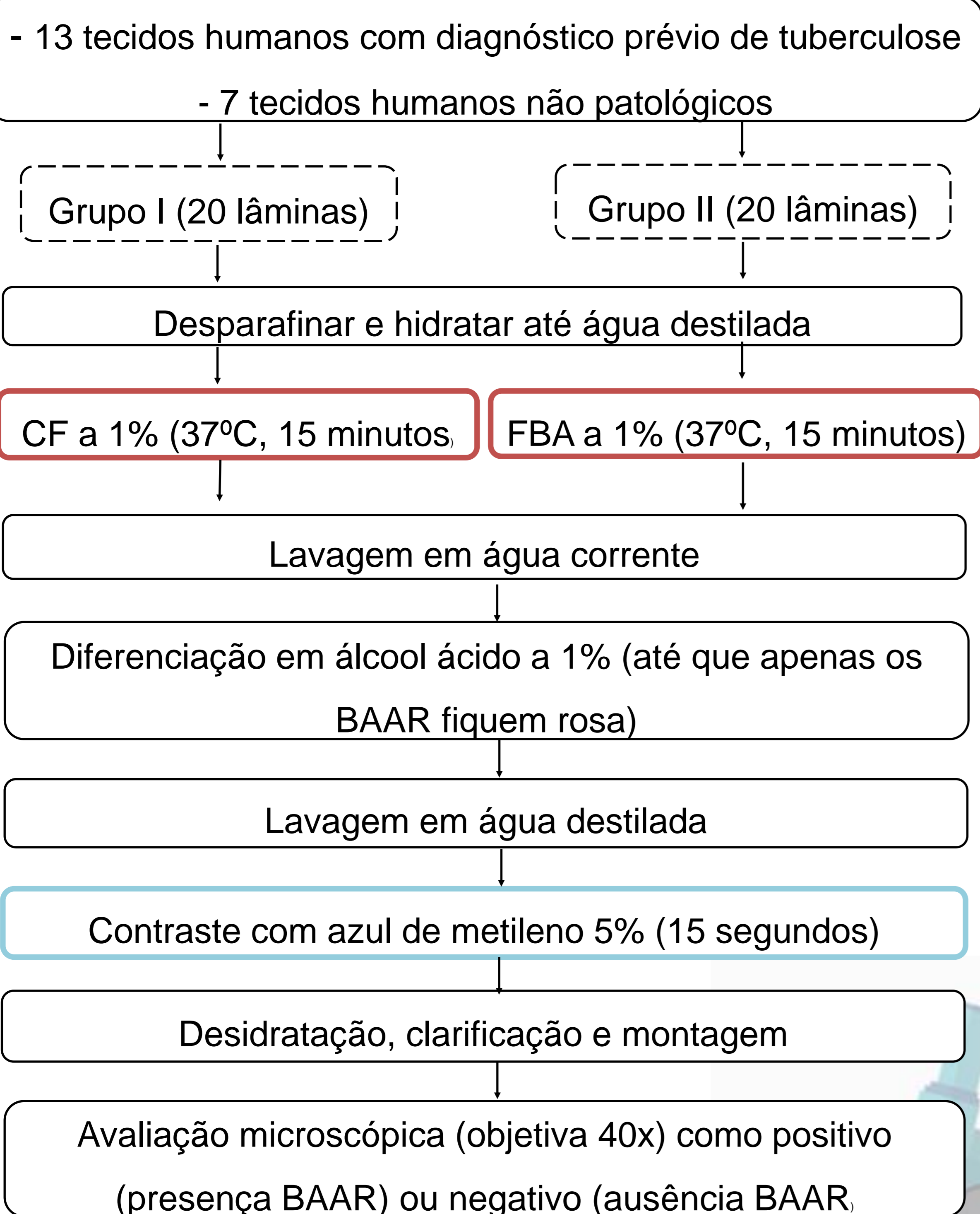
A. Gomes; P. Amaral; R. Santos; S. Santos; F. Tortosa; P. Mendonça; A. Marques-Ramos*
*ana.ramos@estesl.ipl.pt

H&TRC-Health & Technology Research Center, ESTeSL- Escola Superior de Tecnologia da Saúde, Instituto Politécnico de Lisboa.
Os autores do H&TRC agradecem à FCT/MCTES o apoio nacional prestado através de UIDB/05608/2020 e UIDP/05608/2020.

Introdução

A técnica de Ziehl-Neelsen (ZN) permite detetar bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR), tal como *Mycobacterium tuberculosis* (agente causador da tuberculose)¹. Nesta técnica, a carbol-fucsina (CF) penetra a parede das BAAR conferindo-lhes uma tonalidade rosa que é mantida quando utilizada uma solução decolorante, devido ao envelope celular que lhes confere resistência álcool-ácida². Assim, as BAAR são demonstradas a rosa sobre um fundo azul². A CF implica o uso de fenol que liberta vapores, cuja inalação pode resultar em graves efeitos para a sua saúde a curto e a longo prazo^{3,4,5}. Alguns autores comprovaram a capacidade da fucsina básica aquosa (FBA) aquecida, como alternativa, para corar BAAR^{6,7}. Assim sendo, pretende-se com o presente estudo determinar a capacidade de deteção da técnica de Ziehl-Neelsen sem o uso de fenol.

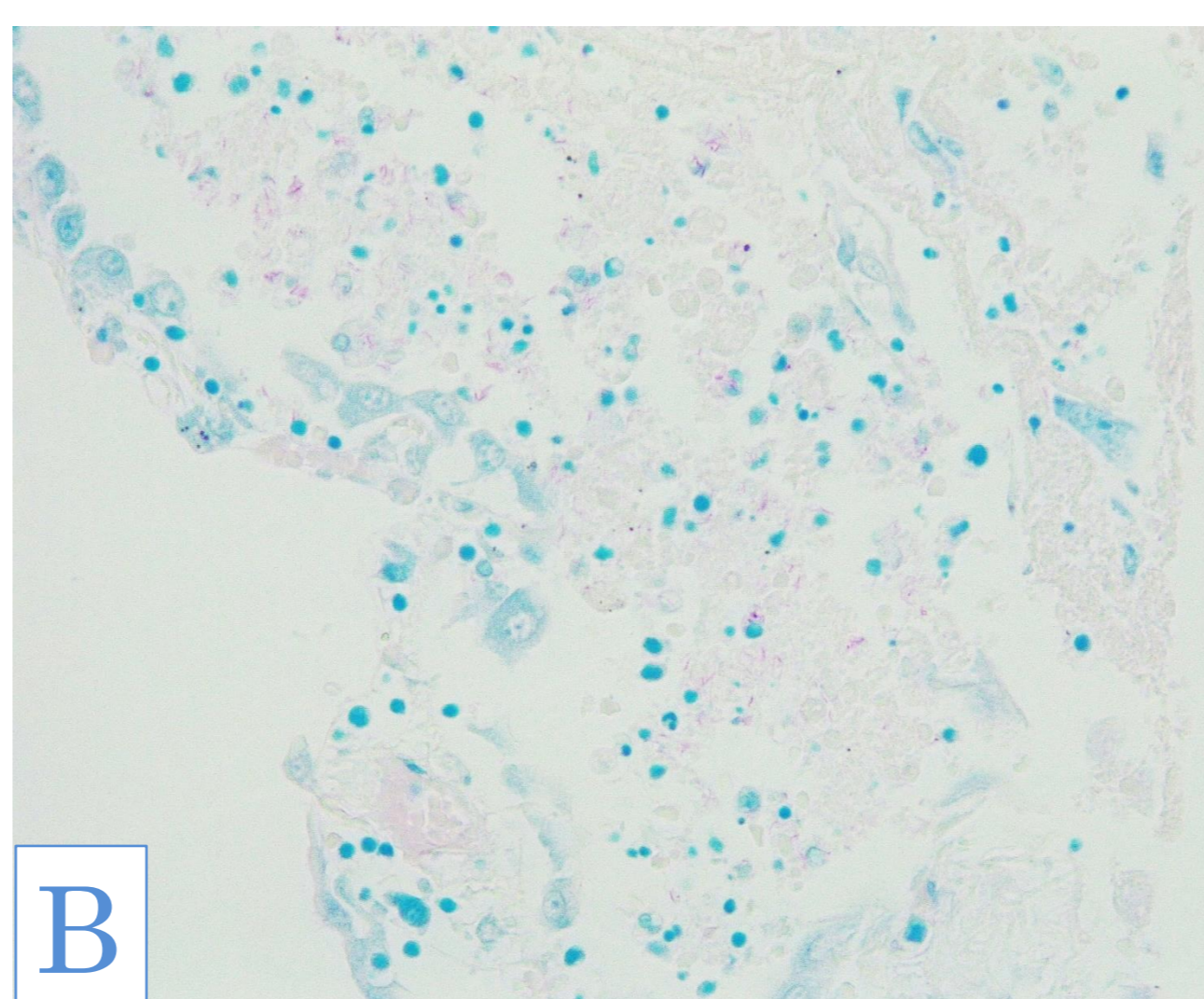
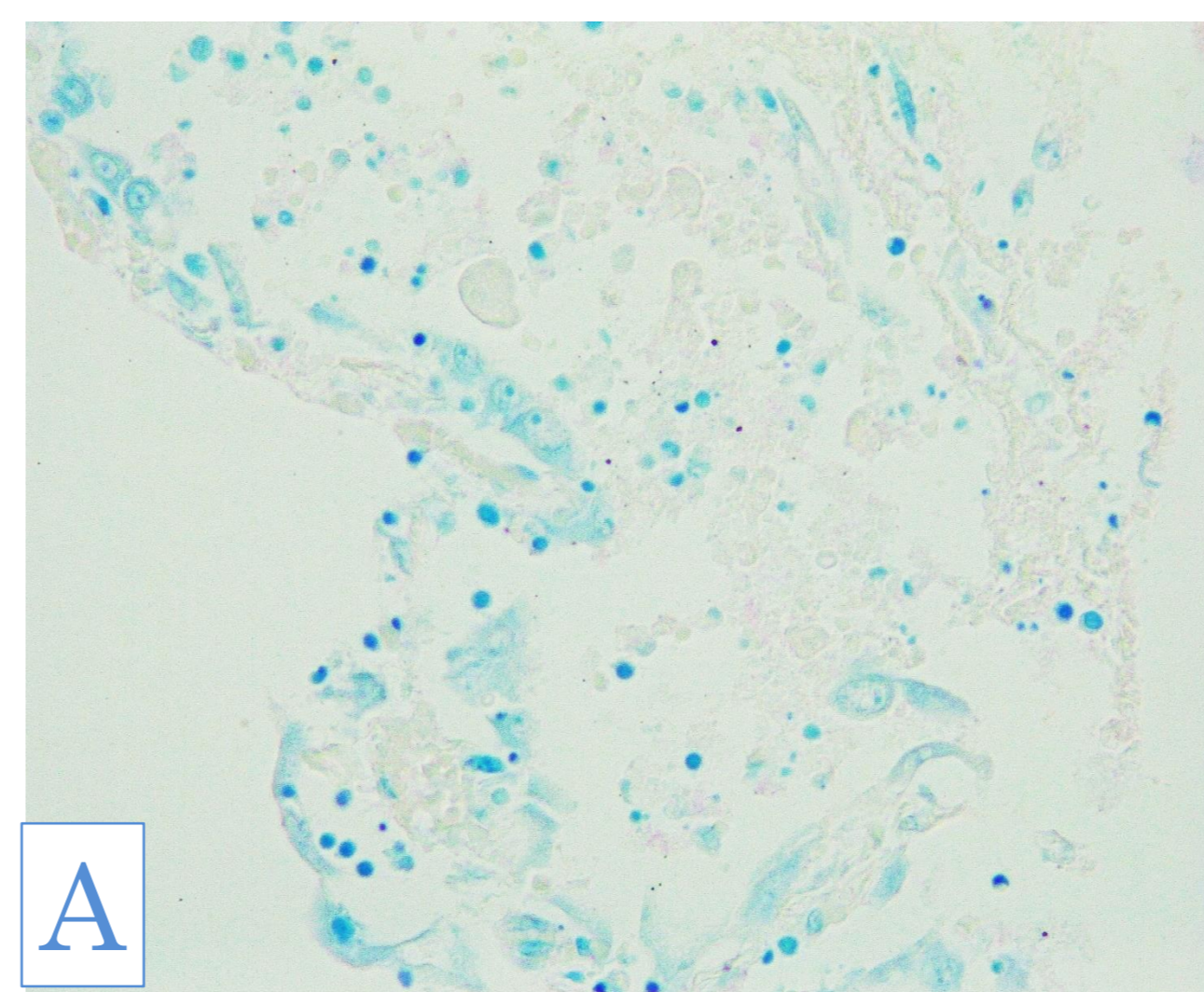
Metodologia



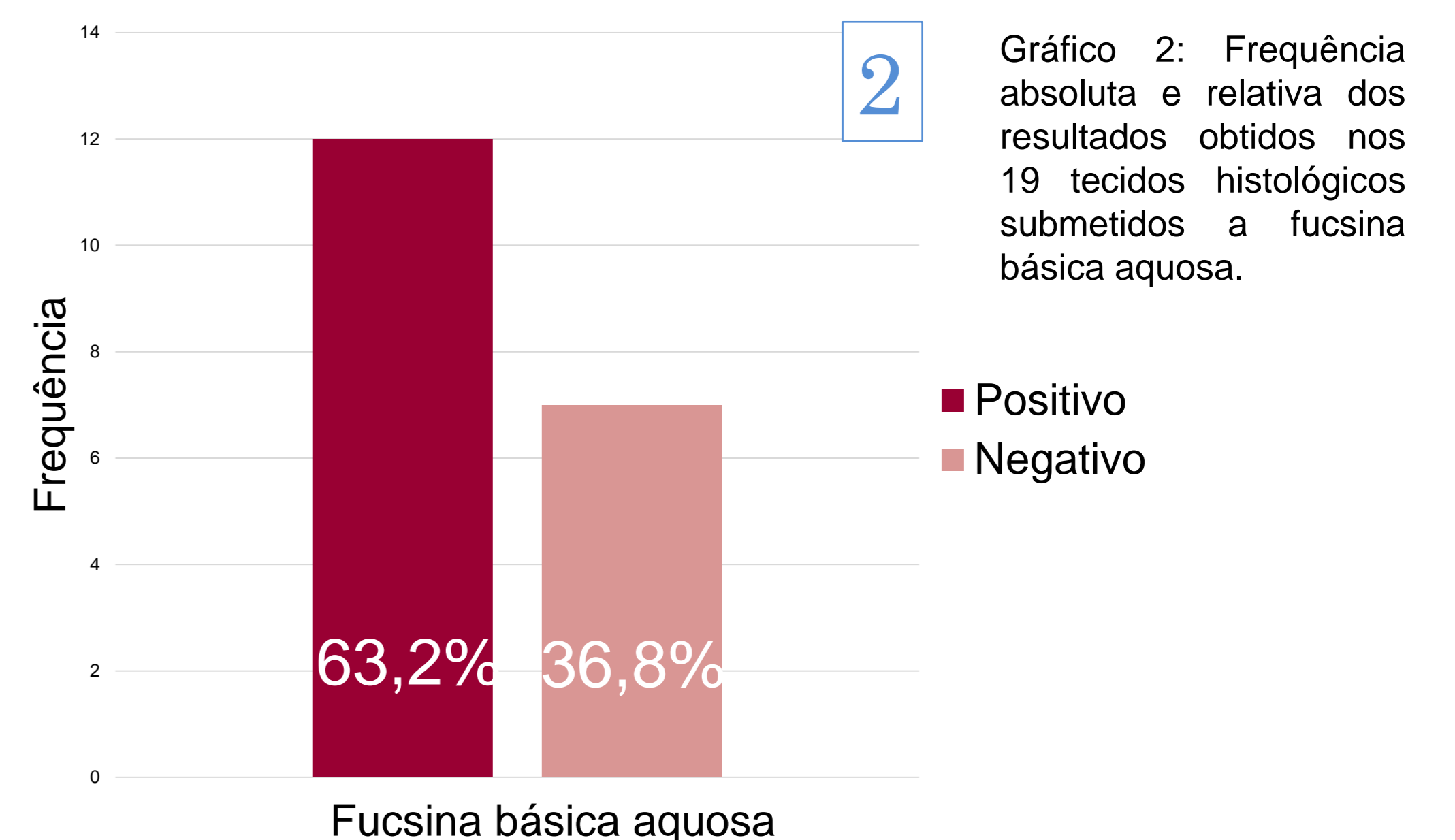
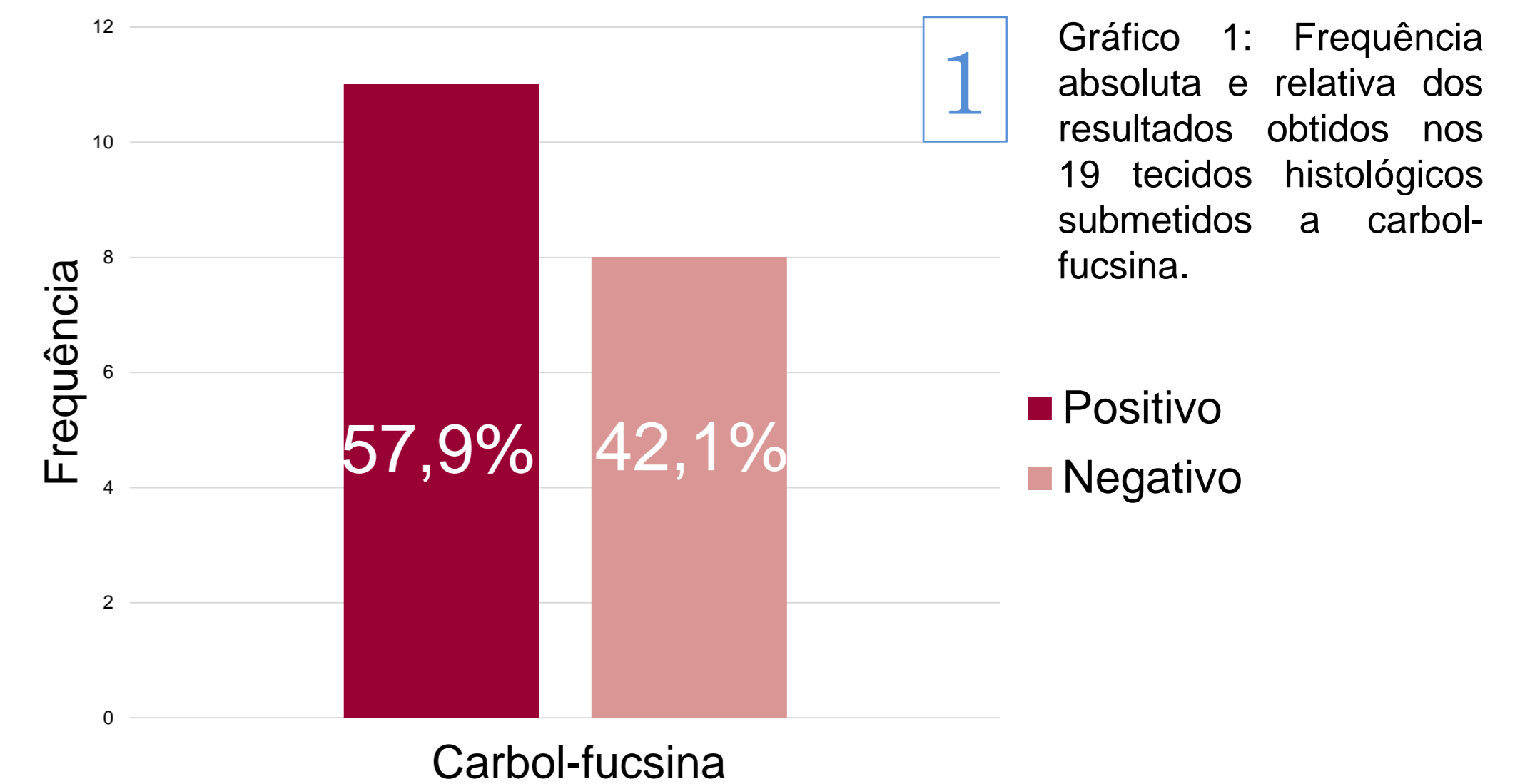
Conclusão

Os resultados obtidos entre as duas soluções utilizadas não apresentam diferença estatisticamente significativa pelo que a FBA possui capacidade de deteção semelhante à da CF. A FBA pode, eventualmente, substituir a CF na técnica de ZN sem detrimento da visualização microscópica de BAAR. Assim sendo, a supressão do fenol não aparenta afetar a capacidade de deteção desta técnica e a sua eliminação permite reduzir substancialmente as consequências para a saúde dos profissionais de saúde que a realizam.

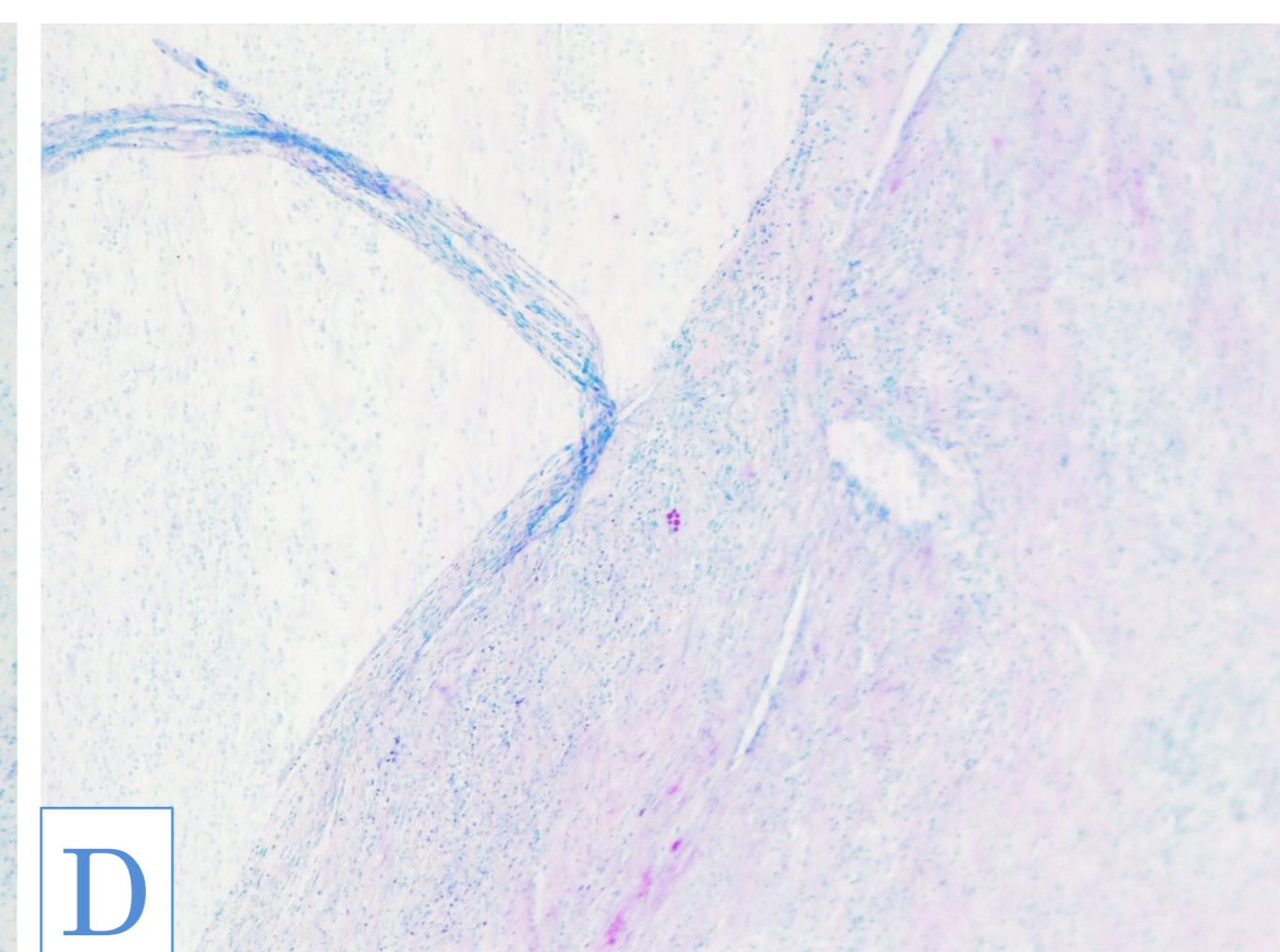
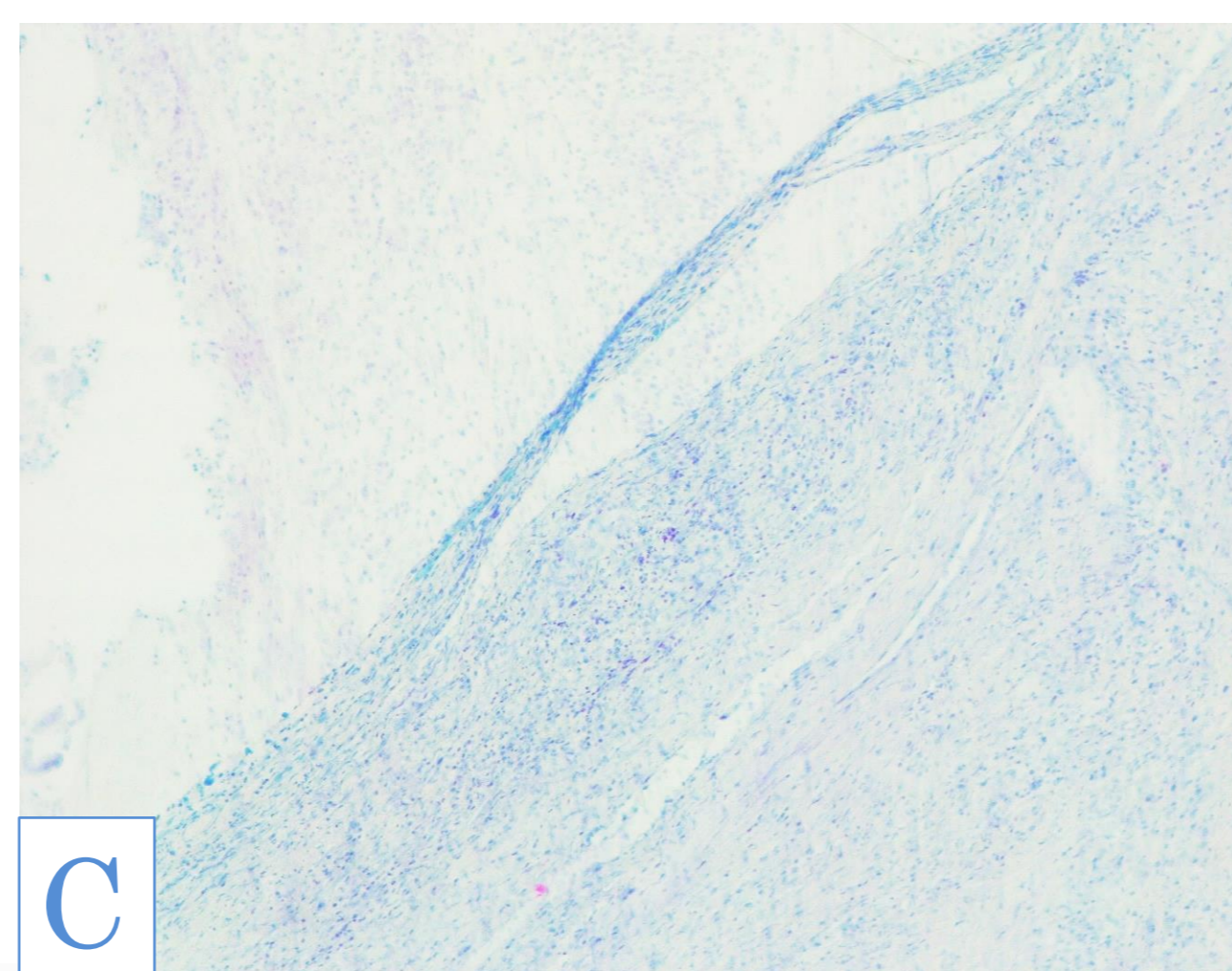
Resultados



Figuras - BAAR demonstrados com carbol-fucsina (A) e fucsina básica aquosa (B) em tecidos extrapulmonares com diagnóstico prévio de tuberculose (400x).



Um dos casos com diagnóstico prévio de tuberculose foi avaliado como “Duvidoso” por um dos patologistas pelo que foi excluído da análise estatística efetuada por não se garantir a conformidade do seu resultado em ambas as avaliações efetuadas passando, assim, a ter-se um total de 12 casos positivos. Destes, a FBA evidenciou bacilos em 12, em oposição à CF que apenas identificou 11. O tecido em causa possui uma dobra que pode justificar a sua negatividade através da CF (figura C), enquanto com a FBA se obtém um resultado positivo (figura D).



Figuras C e D - Tecido negativo para a carbol-fucsina (C) e positivo para a fucsina básica aquosa (D). As imagens evidenciam a dobra presente neste tecido que foi mencionada pelos patologistas (100x).

Discussão

- Não se obteve diferença estatisticamente significativa entre a CF e FBA na técnica de ZN ($X^2=3,84$, $p\text{ value}>0,05$), pelo que a capacidade de deteção de BAAR destas soluções aparenta ser semelhante. → É possível suprimir o fenol da técnica de ZN, através do uso de FBA, sem afetar a capacidade de deteção de BAAR;
- Lâminas coradas com FBA aparentam ter coloração mais intensa dos BAAR e um ligeiro fundo. No entanto, a presença de fundo não dificultou a perceção bacilar visto que nenhum dos avaliadores mencionou a sua presença;
- Os resultados são concordantes com os de Speranza, V *et al.*⁶ e de McCollough, V.⁷, que obtém sucesso na demonstração de BAAR presentes em tecidos histológicos através do uso de FBA na técnica de ZN;
- Os resultados apoiam a teoria proposta por Lamanna⁸, na qual o fenol atua liposolubilizando o corante usado, sem interferir na reação química de evidenciação.

Referências bibliográficas

1. Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques.*; 2013. doi:10.1016/B978-0-7020-4226-3.00002-0
2. Ingen J. Mycobacteria. Em: *Infectious Diseases.* 4ª edição. ; 2017:1645–1659. doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6285-8.00185-4
3. World Health Organization. *Phenol: health and safety guide.*; 1994. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39958/9241510889-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
4. ROTH. *European Community Safety data sheet: Phenol.* Alemanha; 2016.
5. Office of Environment H& S. *Phenol: Hazards and Precautions.* California; 2003. <https://www.ehs.berkeley.edu/sites/default/files/lines-of-services/workplace-safety/44phenol.pdf>
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>.