

presented an abrupt fall on IgM levels around of 30th day, dying on the 41st and 48th days, respectively. Dog 4 presented a slow decrease on the IgM titers with not significant levels around of 60th day, and survived throughout the experimentation period. Dog 1 showed slow and significant decrease of IgM titers, dying on the 55th day. Similar results were obtained from IHA, although McELISA has showed earlier and longer detection of IgM antibodies. IgG-IFAT titers ranged from 64 to 8192 starting from the 7th day achieving the highest level around of 20th day.

Conclusion: The results suggest that the IgM antibody profile to *T. gondii* in dog is precocious and transitory. In addition, McELISA showed to be an important tool for diagnosing canine acute toxoplasmosis.

Financial support: CNPq, FAPEMIG

Métodos, Equipamentos e Ensino

30.001 a 30.019

30.001

A chemiluminescent reaction FOR serum PSEUDOCHELINesterase. ¹Yavo, B**., ²Brunetti, I.L., ³Fonseca, L.M., ⁴Catalani, L.H., ¹Campa, A. Faculdade de Ciências Farmacêuticas ¹USP e ²UNESP e ³Instituto de Química USP.

Objective: In a previous study we show that serum had an hydrolyze activity on 1-(2-methyl) propenylbenzoate (MPB) specifically related to the pseudocholinesterase (Anal Biochem 234:215, 1996). The generated 2-methyl-1-propenol (enol form of isobutyraldehyde, IBAL) was subsequently oxidized by the horseradish peroxidase (HRP)/H₂O₂ system. Oxygen was consumed and the cleavage of a dioxetane intermediate yielded luminescence. In this work we studied the behavior of the MPB (1mM)/serum/HRP (2.77U)/H₂O₂ (74μM) system at various volumes of serum in order to improve conditions useful for clinical chemistry.

Methods and Results: Oxygen uptake (Yellow Springs Instruments) and light emission (EG&G Berthold LB96V microplate luminometer) are affected by variations in serum volume. For low volumes of serum (30 and 50 μL) the oxygen uptake and light emission are low but continuous, while at higher volumes the reaction is faster but stops suddenly. The inhibition of the HRP-catalyzed oxidation of 2-methyl-1-propenol by serum can be safely rejected since serum does not decrease the consumption of oxygen of the IBAL/HRP/H₂O₂. 2-Methyl-1-propenol and benzoic acid (products formed in the first step) or acetone and formic acid (products formed in the second step) are possible inhibitors of serum esterase. A preliminary study with serum from liver compromised patients (serum bilirubin, AST, ALT ALP or γGT altered) was advanced.

Conclusion: In this condition the light emission is systematically higher indicating the applicability of this reaction in clinical chemistry.

Supported by FAPESP and CNPq.

30.002

PROPOSTA DE METODOLOGIA PARA ANÁLISE DE MATERIAIS METÁLICOS ODONTOLÓGICOS UTILIZANDO ATIVAÇÃO NUCLEAR. F.A. Genezini, C.B. Zamboni, A.C. Cestari, J.A.G. Medeiros, I.M.M.A. Medeiros. Universidade Santo Amaro, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.

Objetivos. Utilizando ativação nuclear propõe-se um método para avaliar, quantificar e verificar a qualidade de materiais metálicos de uso odontológico disponíveis no mercado. As ligas de uso no ambiente bucal, como: amalgamas, fios destinados a aparelhos ortodônticos, brocas dentais, próteses, e outros devem obedecer as especificações que asseguram sua qualidade, garantido seu desempenho mecânico e durabilidade. Portanto é importante o conhecimento de sua pureza química bem como a avaliação quantitativa

de sua composição. Neste estudo descreve-se os princípios da técnica por meio de uma aplicação.

Métodos e Resultados. A ativação nuclear do material a ser analisado e feita utilizando-se reações nucleares com neutrões gerados em reatores. O material irradiado da origem aos isótopos radioativos relacionados com a sua composição e a análise dos espectros gama permite estabelecer a composição química bem como identificar impurezas no material. Foram analisadas várias ligas restauradoras de Ag-Sn, de procedência distinta. As ligas foram submetidas a ativação com neutrões térmicos, via reação (n,γ) e rápidos, via reação (n,2n). As análises revelam baixo teor de Ag e Sn nas ligas bem como a presença de elementos secundários e impurezas em alta concentração.

Conclusão. Utilizando ativação nuclear é possível caracterizar ligas metálicas com precisão. Particularmente, neste estudo, as ligas analisadas mostram-se de inferior qualidade.

Apoio Financeiro: UNISA e Fapesp.

30.003

QUANTIFICAÇÃO DE VOLUME SANGRADO EM MODELOS DE HEMORRAGIA NÃO CONTROLADA UTILIZANDO GAMA CÂMARA. S Sinosaki**, Ea Sallum**, Fl Pereira, Fy Hondo, R Abe, Rs Coimbra, Pd Branco, M Rocha E Silva. Divisão De Experimentação, InCor - FMUSP.

Objetivos: A gama câmara pode ser usada para localizar sítios de sangramento gastro-intestinais ou decorrentes de cirurgias ortopédicas, mas não existe método para quantificar tais sangramentos, com este equipamento. Este trabalho descreve um método que sistematiza o uso da γ-câmara para quantificar sangramentos em modelos experimentais.

Métodos e Resultados: A γ-Câmara Portátil (Elsicnt Ltd, Modelo Apex 209m) Foi Posicionada Sobre O Abdômen De Cães (N=3). Foi Simulado Hematoma Retroperitoneal (HR) Com Volume Conhecido De Sangue Radiomarcado Com Tc^{99m}, Injetado Diretamente Na Cavidade Retroperitoneal, Em Aliquotas De 50 Ml. As imagens foram adquiridas a intervalos de 5 minutos. Foi também obtida imagem de uma seringa contendo 10 ml de sangue. Contagens de uma região de interesse (RI) para cada imagem foram comparadas com a da seringa. conhecido o volume injetado para cada imagem, a contagem do volume da seringa e da RI forneceu um fator de correção de 3,67 para este modelo. em outros 5 cães as artérias ilíacas foram lesadas bilateralmente dando origem a um HR. O volume inicial de hemácias (VCI) foi determinado pela técnica de diluição. A primeira imagem, antes da lesão, foi usada como contagem de fundo. o volume de hemácias circulante final (VCF) foi encontrado subtraindo-se vci do calculado para o HR. Em outros 5 cães, HR foi produzido, o VCI e VCF foram determinados utilizando-se a técnica de diluição de Tc^{99m} e Cr⁵¹, respectivamente. A perda de hemácias no primeiro caso foi de 31,2% e, no segundo, 32,8% sem diferença significativa entre eles (p>0,7).

Conclusão: Esta quantificação de sangramentos é útil para acompanhar experimentos de hemorragia não controlada.

30.004

DOENÇAS HEREDITÁRIAS LIGADO AO CROMOSSOMO X - DIAGNÓSTICO MOLECULAR PARA PORTADORES DE HEMOFILIA TIPO A. Cremonesi, A.L.S.; Lindsey, C.J. - Departamento de Biofísica da UNIFESP - Universidade Federal de São Paulo.

Objetivos: Desenvolver diagnóstico à portadores de hemofilia do tipo A, baseado em análise de polimorfismos hipervariáveis localizados dentro do intron 13 e 22 e identificados por reação em cadeia da polimerase "PCR" e eletroforese em gel gradiente 8-25 de poliacrilamida. Uma vez que o método "RFLPs" já implantado no Hospital São Paulo é pouco informativo abrangendo apenas 56% das famílias estudadas.

Métodos e Resultados -Foi desenvolvido no Depto. de Biofísica e posteriormente implantado no Depto. de Hematologia do Hospital São Paulo o diagnóstico ba-

seado em análise de RFLP "Restriction Fragment Length Polymorphism" Hind III localizado no intron 19 e Bcl I localizado no intron 18, onde a técnica consiste em amplificação de segmentos de DNA pela reação em cadeia da polimerase "PCR", seguida por digestão enzimática e o produto destas reações identificados através de eletroforese em gel de agarose 2%. Devido ao desequilíbrio de ligação existentes entre esses dois sítios de restrição, esse método mostrou-se eficaz em cerca de 56% das famílias estudadas. Fazendo-se necessário desenvolver diagnóstico utilizando marcadores polimórficos hipervariáveis e esses consistem em dinucleotídeos "repeats" (CA)₁₉ e (GT)₂₄ localizados dentro do intron 13 e 22. A técnica utilizada compreende em extração de DNA utilizando "Kit" QIamp-Qiagen e amplificação pela reação em cadeia da polimerase "PCR" com primers específicos e a identificação através eletroforese em sistema "Phast System" em gel gradiente 8-25 de poliacrilamida e corado com nitrato de prata. Nossos resultados mostraram alelos com 87 e 126 pares de bases para o intron 13 e 22 respectivamente, sendo possível identificar o gene defeituoso dentro de uma família.

Conclusões: Os resultados mostraram que o diagnóstico para portadores do gene para hemofilia tipo A utilizando análise dos marcadores polimórficos do intron 13 e 22 juntamente com "RFLPs" é informativo em cerca de 96% das famílias estudadas.

30.005

COMPARAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE NITRATO OBTIDAS POR ELETROFORESE CAPILAR E PELO ANALISADOR DE •NO. Pereira, I.R.O¹; Moriel, P²; Abdalla, D.S.P²; ¹Depto. de Alimentos e Nutrição Experimental, ²Depto. de Análises Clínicas e Toxicológicas - FCF - USP - SP

O nitrato é o principal metabólito derivado do •NO e os seus níveis plasmáticos podem ser usados como um indicador da formação endógena de óxido nítrico.

Objetivo: Comparação da concentração de nitrato no plasma de coelhos por eletroforese capilar (HPE) e pelo analisador de NO (NOA).

Métodos: O plasma foi filtrado previamente em filtros Centrifree® (Millipore). No NOA, o nitrato plasmático foi reduzido a •NO com vanádio (III), e o •NO formado foi detectado por quimiluminescência em fase gasosa, após reação com ozônio. Na HPE, o nitrato plasmático foi analisado a 214 nm, utilizando-se um capilar de 50 cm x 50 um a 25 °C, -15 kv de voltagem e sulfato de sódio 100 mM, contendo CTAB 0,2 mM, como eletrólito. **Resultados:** A concentração plasmática de nitrato no NOA foi de 13,9 ± 4,4 uM e no HPE foi de 56,9 ± 32,5 uM. Os resultados mostraram um aumento de 4,4 ± 2,6 vezes da HPE em relação ao NOA. A análise de diversos ânions (Cl⁻, SO₄²⁻, PO₄³⁻, CO₃²⁻ e HCO₃⁻) demonstrou que nenhum dos possíveis interferentes presentes no plasma apresentou migração eletroforética igual à do nitrato. Após redução do nitrato plasmático a nitrito, não foi observada nenhuma outra substância com migração eletroforética igual a do nitrato.

Conclusão: Os resultados demonstram que os valores absolutos da concentração de nitrato diferem entre as duas metodologias estudadas, com os valores obtidos por HPE sendo mais elevados que aqueles determinados pelo NOA.

Suporte financeiro: FAPESP

30.006

ANÁLISE DE LEUCOMETRIA TOTAL COMPARANDO-SE MÉTODOS DE SANGRIA EM CAMUNDONGOS PARA CONTROLE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS. Lopes, M.C., Sabatino, M.C.M.F., Brum, R.M., Departamento de Farmacologia e Toxicologia, INCQS, R.J. **Objetivos:** O presente trabalho teve como principal objetivo identificar o método de sangria mais indicado para fornecer resultados mais precisos para a avaliação de resposta hematológica em camundongos na análise de controle de qualidade em medicamentos, já que o volume de sangue a coletar é muito reduzido. Foram avaliadas respostas de leucometria total em aparelho contador de partículas (modelo ZM da