

## 4- MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1- Casuística

Avaliaram-se, retrospectivamente, 274 registros clinico-laboratoriais de pacientes intoxicados por dapsona, cujas análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório do Centro de Controle de Intoxicações da Prefeitura do Município de São Paulo, no período de janeiro de 1985 a dezembro de 1995. Os registros clínicos foram efetuados em um protocolo especialmente elaborado para este estudo (ANEXO 1). As idades dos pacientes variaram de 1 mês a 50 anos, razão pela qual foram distribuídos em 4 grupos de acordo com a idade (TABELA I). O primeiro grupo (G1) foi constituído por 147 crianças de 1 mês a menores de 5 anos (55,2% no total), o segundo grupo (G2) por 33 crianças, de 5 a 12 anos (12,4%), o terceiro grupo (G3) de 39 adolescentes de 13 a 18 anos (14,7%), e o quarto grupo (G4), por 47 adultos de 19 a 50 anos (17,7 %). Cerca de 40% do total de pacientes eram do sexo masculino e 60% do sexo feminino.

TABELA I. Grupos de pacientes distribuídos por idade e sexo.

Grupos	Idade(anos)	Nº pacientes	Homens	Mulheres
1	< 5	147 (55,2)	66	81
2	5 - 12	33 (12,4)	12	21
3	13 - 18	39 (14,7)	07	32
4	19 - 50	47 (17,7)	19	28

Entre parêntese, valor percentual de pacientes.

#### **4.2- Causas Circunstanciais**

Para esclarecer as causas dos acidentes toxicológicos, adotaram-se as seguintes condições circunstanciais:

- acidente - quando a intoxicação ocorreu por ingestão inadvertida ou acidental;
- tentativa de suicídio - quando a intoxicação ocorreu por ingestão excessiva voluntária;
- ingestão errônea - quando a intoxicação ocorreu por ingestão maior do que a prescrita;
- causa desconhecida - quando a intoxicação não ocorreu por nenhuma das formas anteriores e tampouco pode-se precisar a causa;
- outras causas - quando a intoxicação ocorreu por outras causas como, por exemplo tentativa de aborto ou de homicídio.

#### **4.3 - Quantidade Ingerida de Comprimidos e Sintomatologia**

Os pacientes foram agrupados em relação à quantidade ingerida da dapsona e à sintomatologia apresentada na intoxicação, como vômito, cianose, dispnéia, confusão mental e taquicardia.

#### **4.4- Métodos Laboratoriais**

As amostras de sangue foram obtidas de diferentes hospitais da Grande São Paulo e, geralmente, acompanhadas de relatório com dados clínicos do paciente. Após o recebimento, foram imediatamente e convenientemente processadas, de acordo com a análise toxicológica a ser efetuada. Amostras seriadas foram recebidas durante a evolução do tratamento dos pacientes. O número de amostras por paciente variou de acordo com a evolução clínica. Em alguns casos, receberam-se amostras consecutivas de pacientes até por mais de 10 dias.

Realizaram-se os seguintes exames toxicológicos: metemoglobinemia, em todos os pacientes e dapsonemia em 63 pacientes.

O número realizado de análises foi: 814 exames de metemoglobinemia para 274 pacientes; 171 determinações de dapsonemia para 63 pacientes.

O material biológico (sangue heparinizado) foi encaminhado com as informações clínicas dos pacientes que, posteriormente, foram passadas ao protocolo.

### **A-Dosagem de Metemoglobina**

A amostra biológica, constituída de sangue heparinizado, foi processada no máximo até 2 horas após a coleta. Utilizou-se o espectrofotômetro marca Beckmann, modelo DB-GT e os reagentes foram todos de pureza pró-análise.

A metemoglobina foi dosada utilizando-se o método espectrofométrico de EVELYN & MALLOY (1938), modificado por MEUNIER (1972) e modificado posteriormente pela equipe do laboratório do CCI. O método baseia-se na medida da absorvância máxima, a 630 nm, da metemoglobina de uma solução sanguínea, antes e após a transformação total de hemoglobina em metemoglobina e cianometemoglobina. Correlacionadas, matematicamente, as medidas de absorvância permitem encontrar o valor da metemoglobina, em porcentagem. A modificação que se Introduziu no método foi o uso da solução de Triton, para obter-se uma solução hemolisada sem turbidez. Utilizou-se uma (mica solução tampão, ao contrário da mistura extemporânea preconizada pela técnica original.

### **A-Dosagem de dapsona plasmática**

O padrão de dapsona foi fornecido pelo IQUEGO-Instituto de Química do Estado de Goiás, Secretaria da Saúde. Os reagentes utilizados foram todos pró-análise.

O método utilizado na dosagem de dapsona foi o espectrofotométrico de TAWADA & MIDIO (1989), utilizando espectrofotômetro Beckmann DB- GT.

As amostras eram armazenadas a 5° C até o momento de sua execução. A dosagem sérica da dapsona baseou-se na formação da Base de Schiff a partir da reação da dapsona com o 4-dimetilamino-benzaldeído, cuja absorvância foi medida a 458 nm e comparada com uma curva de calibração que ofereceu o resultado em microgramas ( $\mu\text{g}$ ) por mililitro (mL) de soro.

#### ***4.5 - Classificação de Gravidade da Intoxicação***

A classificação adotada, por intervalos de referências, foi baseada na correlação entre os resultados das análises laboratoriais de metemoglobinemia com a gravidade clínica dos pacientes, segundo protocolo clínico de tratamento da Equipe Médica do CCI (ANEXO 2), e fundamentada em outros dados da literatura, como GOLDFRANK et al. (1990), BOWMAN & RAND (1980). Dessa forma, a metemoglobinemia menor que 16% correspondeu às intoxicações leves, de 16% a 29% às moderadas e igual e maior que 30% às graves (TABELA II).

A classificação, de acordo com os níveis plasmáticos de DDS, foi baseada no trabalho de QUEIROZ (1995), que determinou níveis terapêuticos plasmáticos (1,04 a 3,05  $\mu\text{g/mL}$ ) de pacientes em uso crônico de DDS (100 mg diários) e nos relatos de ZUIDEMA et al. (1986) que determinaram níveis plasmáticos em pacientes voluntários (0,4 a 1,2  $\mu\text{g/mL}$ ), que receberam doses únicas (100 mg) de DDS. Ficou estabelecido, genericamente, a seguinte correspondência: concentração de dapsona menor que 10 vezes a concentração média plasmática de DDS corresponderia à intoxicação leve, entre 10 e menor que 21 vezes à intoxicação moderada e igual ou acima de 21 vezes à intoxicação grave. A TABELA II apresenta os intervalos de referências adotados para classificar as intoxicações segundo sua gravidade.

TABELA II. Classificação de gravidade da intoxicação conforme metemoglobinemia e dapsonemia.

	Intoxicação		
	Leve	Moderada	Grave
<b>Metemoglobinemia (%)</b>	<16	16 <30	≥30
<b>Dapsonemia (µg/mL)</b>	<10	10 <21	≥21

(%) Valor expresso em porcentagem da hemoglobina total.

#### 4.6- Análise Estatística

Utilizou-se o programa EPIINFO, VERSÃO 6.04 do "Center for Disease Control" de Atlanta, Georgia, EUA, para análise estatística dos dados, o qual é constituído de uma série de programas que permite criar um banco de dados e manuseá-lo.

A análise estatística utilizada foi predominantemente não paramétrica, em razão das variáveis estudadas que não apresentaram uma distribuição normal e, portanto, se baseou na diferença de distribuição de valores.

O teste utilizado para comparação da distribuição de valores segundo os grupos foi o de KRUSKAL & WALLIS (1952, citado por SIEGEL, 1975) que se baseia na análise de variância de acordo com uma classificação por Intervalos que permite dizer se as diferenças dos valores das amostras Independentes são diferenças verdadeiras da população ou, simplesmente variações aleatórias da mesma população. Desta forma essa prova supõe que a variável em estudo tem como base uma distribuição contínua que substitui cada uma das amostras por intervalos de amostras que se ordenam em série.

As regressões lineares e as correlações utilizadas foram analisadas pelo coeficiente de correlação de SPEARMAN (1904, citado por SIEGEL, 1975) cujo fundamento se baseia na análise da significância dos conjuntos de dados, verificando se existe associação entre os valores das diversas

medidas a fim de se identificarem as diferenças e as semelhanças entre os valores medidos.

Para analisar a influência de cada fator de risco (variáveis independentes) para a gravidade da intoxicação (variável dependente ou variável resposta) foi utilizada a regressão "generalized linear models for dependent data, via generalized estimating equations (GEE)" versão 4.4, 1996 do programa S-PLUS, 1988, 1994 Math Soft Inc. (LIANG & ZEGER, 1986; CAREY, 1989), que permite delinear vários modelos a partir de variáveis selecionadas, que formam um conjunto completo. Essas variáveis são retiradas uma a uma de acordo com o nível crescente e decrescente de associação estatística. (stepwise) que apresentam, até chegar num modelo final no qual as variáveis apresentam uma associação significativa de acordo com o valor do coeficiente z, que tem seu valor correspondente em p. Trata-se de método adotado para análise de dados com medidas seqüenciais (repetidas), que correlaciona as medidas feitas num mesmo Indivíduo e entre vários Indivíduos O objetivo das correlações é avaliar se as variações dentro e entre os pacientes estimam os mesmos valores. E, se de fato isso ocorre, podem combinar-se para fornecer uma melhor estimativa da relação entre os indivíduos. O teste de WALD (1975, citado por SIEGEL, 1975) foi utilizado para avaliar a significância das variáveis nos diversos modelos, testando a consistência do coeficiente z para as mesmas.

O nível de significância adotado foi de 5%.