

LUANA MANOELE PETRAZZINI DOS SANTOS

**DILUIÇÃO, TITULAÇÃO E DOSAGEM DE PROTEÍNAS EM CONTEXTO
MULTIMÍDIA.**

Monografia apresentada ao
Departamento de Patologia Básica, Setor de
Ciências Biológicas da Universidade Federal do
Paraná como requisito parcial para obtenção do
grau de Bacharel.

Orientadora: Professora Ida Cristina
Gubert

Co-orientador: Professor Remy Lessnau

MONBIO/
SANTOS LUANA MANOELE P. DOS SANTOS

CURITIBA

2007

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus mais queridos.

Em primeiro lugar aos meus pais, que me apoiaram incondicionalmente, em todos os momentos.

Ao meu *tomatinho* Adilson, por ter paciência com as longas horas de ausência.

A todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização desse trabalho, seja dando idéias, ou um ombro amigo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Universidade Federal do Paraná, juntamente com seu corpo de funcionários, docentes e servidores, que propiciaram um ambiente de grande qualidade educacional e moral, que muito auxiliou em minha formação profissional e pessoal.

À minha orientadora Ida Cristina Gubert pelas dicas, conselhos, ensinamentos, paciência e dedicação, que tanto me surpreenderam nesses quatro anos de estágio; ao invés de encontrar a “Professora Idona” encontrei a orientadora, no sentido literal da palavra, ao entrar pela primeira vez em sua sala.

Ao meu co-orientador, Remy Lessnau, que com seu jeito tranquilo e descontraído muito acrescentou nessa caminhada, sempre enriquecendo este trabalho.

Aos meus pais, que agüentaram todas as barras e tornaram possível a minha permanência na faculdade por todos esses anos, sem que eu precisasse me preocupar com outros tantos problemas que advém naturalmente em uma família; eles estavam sempre ali por mim.

Aos colegas de “turma”, Augusto, Chris, Sushi, Caderno, Luis, Fer, Yart, Kely, Edi, Lamas, Héliidy, Bárbara, Diogo, Juliano, que foram verdadeiros companheiros de festas e momentos de descontração durante longos anos.

Aos amigos de verdade que se formaram nesse período de graduação, Marcelo, Angela, Chuli, Tati, Bio, com quem tive maravilhosas conversas, de quem recebi ótimos conselhos, e com quem realmente aprendi a viver.

Ao Adilson, pela tranquilidade, carinho, conforto, segurança e amor que eu tanto precisava no fim dessa caminhada.

À minha inesquecível Amiga-Irmã Carolina Tissot, que Deus levou tão cedo, mas que nos deixou o maior ensinamento de todos: como Amar.

Aos meus sobrinhos, que me deram a oportunidade de praticar esse ensinamento todos os dias da minha vida.

Aos meus familiares que perdoaram as inúmeras ausências, sempre me apoiando para que pudesse concluir o curso.

Agradeço de forma muito especial a Deus, por ter me dado sempre saúde, garra e persistência nas horas em que me abalei.

O que a lagarta diz que é o fim do mundo, o Biólogo chama de borboleta!
(Provérbio Chinês modificado)

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIACÕES	vi
1. INTRODUÇÃO	7
2. JUSTIFICATIVA	8
2.1 Uso de Tecnologias na Educação	8
3. OBJETIVOS	12
3.1. Objetivo Geral	12
3.2. Objetivos Específicos	12
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
4.1. Diluição e Titulação	13
4.1.1. Febre Reumática	14
4.1.2. Proteína C-reativa	17
4.1.3. Pesquisa de Anti-Estreptolisina O	19
4.1.4. Diferenças entre CRP e ASO	19
4.2. Dosagem de Proteínas	22
5. MATERIAL E MÉTODOS	23
5.1. Descrição do Método de Pesquisa de Proteína C-reativa	24
Tabela 5.1.1 - CORRESPONDÊNCIA DOS VALORES DA DILUIÇÃO E CONCENTRAÇÃO EM MG/L	26
5.2. Descrição do Método de Pesquisa de ASO	26
Tabela 5.2.1. CORRESPONDÊNCIA DE VALORES DE DILUIÇÃO E CONCENTRAÇÃO:	28
5.3. Descrição do Método de Bradford para Dosagem de Proteínas (BRADFORD, 1972)	28
5.4. Metodologia	29
5.5. Construção do Interativo	30
5.6. Elaboração do Texto Interativo	30
6. DISCUSSÃO	31
6.1. Interativo	31
7. CONCLUSÃO	33
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

9. BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA.....	40
10. SÍTIOS RECOMENDADOS.....	40

LISTA DE ABREVIACÕES

Ac: Anticorpo

Ag: Antígeno

ASO: Anti-estreptolisina O

Cd-rom: *Compact disc – Read Only Memory* (disco compacto apenas de leitura)

CRP: Proteína C-reativa

FD: Fator de Diluição

FR: Febre Reumática

IgA: Imunoglobulina da classe A

IFN- γ : Interferon - γ

IgG: Imunoglobulina da classe G

IGM: Imunoglobulina da classe M

IL-1: Interleucina -1

IL-6: Interleucina - 6

l: litros (μ l = micro litro)

mg: miligramas

nm: nanômetros

RPM: rotações por minuto

TNF: Fator de Necrose Tumoral

UI: unidade de medida de concentração de ASO

VHS: Velocidade de Hemossedimentação

Vi: Volume inicial

Vf: Volume final

1. INTRODUÇÃO

Atualmente há uma crescente necessidade de economia de tempo, aumento de produtividade e qualidade em todas as áreas. Para tanto, torna-se essencial a criação de materiais criativos que auxiliem a encontrar respostas rápidas e eficazes para os problemas do cotidiano, incluindo a área de ensino. A tecnologia está sendo cada vez mais utilizada para o aperfeiçoamento das técnicas pedagógicas através do uso de computadores e vídeos; mas para que haja uma completa transmissão do conhecimento é necessária a combinação dessas novas tecnologias com as de informação convencional (textuais e visuais), possibilitando a propagação do conhecimento, pelo uso da reprodução, em programas eletrônicos, de várias atividades desenvolvidas em laboratório com um nível elevado de realidade, sem os custos dos materiais e equipamentos laboratoriais, sem os riscos inerentes, sem as limitações de tempo e espaço.

Assim, um *Cd-rom* interativo com textos e exercícios que não se resume a oferecer subsídios para aulas teóricas, mas que inclua animações de experimentos e seus possíveis resultados, sendo necessária apenas a disponibilidade de um computador representa uma possibilidade interessante no setor de educação. Essa interação com a informação fomenta o aprendizado.

A proposta deste trabalho consiste em uma abordagem sobre diluição e titulação, assim como dosagem de proteínas, tendo ainda como tema paralelo a pesquisa de proteína C-reativa e de anti-estreptolisina O.

Este interativo pode ser encarado como uma forma de esclarecimento aos alunos acerca de assuntos aparentemente complexos – como os cálculos de diluição e titulação – ao disponibilizar demonstrações e explicações ilustrativas sobre os procedimentos, além de proporcionar a todos os usuários uma fonte de informação segura e atualizada.

2. JUSTIFICATIVA

2.1 Uso de Tecnologias na Educação

Durante todo o processo evolutivo do homem diversos instrumentos “tecnológicos” foram criados por todas as civilizações, sempre com o objetivo de auxiliar e explorar novos modos de sobrevivência dos povos e novas metodologias de trabalho (KENSKI, 2003).

Assim, até mesmo o processo de ensino-aprendizagem teve sua forma tradicional modificada como consequência da inserção do computador nas escolas. Aliada a este fator, vem a crescente exigência dos alunos por técnicas inovadoras que tornem o ensino mais dinâmico e motivador (BERNARDI; CASSAL, 2002).

O processo educacional, por conseguinte, está passando por uma atualização, procurando novos recursos de ensino-aprendizagem, como forma de se adequar à nova realidade do ensino. A questão é reduzir a distância entre o conhecimento que um currículo tradicional considera importante e o conhecimento que os alunos acreditam ser importante (McARTHUR *et al.*, 1993).

A partir da utilização de *software* multimídia em aula, os alunos têm a oportunidade de explorar diferentes informações em vários suportes (texto, animação, etc.), de forma simultânea, em uma mesma atividade. Isso faz com que um *Cd-rom* se torne um recurso atrativo para a obtenção de conhecimentos, uma vez que as últimas gerações de estudantes demonstram um maior interesse pela informática tanto para diversão quanto em momentos de estudo (ESTANQUE; NUNES, 2003).

Entre os instrumentos necessários ao professor, a didática apresenta seus conceitos e metodologias, os quais podem se firmar na instrumentação dos professores de ciências em termos de previsão, observação, análise, gestão, regulação e avaliação de situações de aprendizagem e ensino (ASTOLFI; DEVELAY, 1990). Contudo, é de extrema importância que o professor não fique limitado a recursos como o giz e a lousa, e que faça uso de novas tecnologias que criem um ambiente propício ao aprendizado.

O interativo permite praticar virtualmente testes que apresentariam riscos de contaminação aos alunos se fossem desenvolvidos nos laboratórios de aulas

práticas. Os gastos com materiais também são minimizados uma vez que o uso do interativo permite repetições ilimitadas sem custos adicionais.

Outro aspecto a ressaltar é que o interativo se apresenta como um fator importante no processo de ensino-aprendizagem, uma vez que facilita a observação de elementos do sistema imunológico que só poderiam ser visualizados em livros ou outras fontes, muitas vezes pouco acessíveis durante as aulas. Assim, no momento em que se está expondo a matéria o aluno poderá acompanhar as imagens simultaneamente, complementando a exposição feita pelo professor.

A possibilidade de controlar os fatores que afetam um experimento e verificar os resultados estimula os alunos a fazerem previsões do que pode ou não acontecer, envolvendo-os na discussão. Além da própria visualização e estímulo à imaginação, que potencializa a criação de significados para o que está sendo ensinado, o recurso virtual tem uma importância muito grande ao ampliar a interação entre os sujeitos da aula, alunos e professores, cuja troca de idéias e impressões facilita o aprendizado significativamente.

Segundo PINHO (1996), a potencialidade do uso de animações está exatamente no fato de proporcionar a exploração de ambientes, processos e situações, não por meio de fotos, livros, filmes ou aulas, mas através da manipulação e análise virtual do próprio alvo de estudo.

Nos últimos 20 anos o computador tem sido utilizado na educação e tem se mostrado de grande valia como recurso no processo ensino-aprendizagem (BECK *et al.*, 1996; URBAN-LURAIN, 2005). Por isso é muito importante que se incentive os professores a ter nos microcomputadores aliados no ensino presencial (SANTA ROSA, 1990). Alguns docentes já os utilizam para a construção de textos, outros para apresentações em *datashow*. Mas um número reduzido efetivamente transforma suas aulas em programas de multimídia, dificultando o processo de integração da interatividade em grande escala no processo de ensino.

As metas educacionais e os métodos tradicionais de ensino e aprendizagem são gradualmente substituídos graças às novas tecnologias. A questão é que métodos tradicionais já são bem definidos e conhecidos e os novos necessitam de uma discussão mais aprofundada (McARTHUR *et al*, 1993).

Os princípios dos modelos novos podem ser representados por vivência, experimentação, simulações, visualização, colaboração.

A idéia clássica de ensino, em que o professor provê o ensino e o aluno possui o papel passivo de apenas captá-lo, está sucumbindo às novas tecnologias. Atualmente, o modelo didático está centrado no aluno, que passa a assumir um papel muito mais ativo e autônomo no processo de aprendizado (CARDOSO, 1998).

SHANK (1991) recomenda o princípio do aprendizado baseado em simulações, que envolve a criação de modelos dinâmicos e simplificados do mundo real. Esses modelos permitem a exploração de situações complexas, muito onerosas ou até impossíveis de serem realizadas. A simulação permite ao aluno a análise de hipóteses por ele testadas, instigando a curiosidade sobre os resultados e refinando seus conceitos.

O aprendizado colaborativo pode ser entendido como estudantes trabalhando em grupos de forma interativa para a solução de problemas. KATZ (1995) vê esses ambientes como benéficos, tanto em aspectos cognitivos, quanto em sociais, já que o foco dessa situação não é mais a interação professor-aluno, que algumas vezes pode ser vista como intimidante. Os alunos interagem entre si e podem ensinar uns aos outros, sem a necessidade constante de um professor.

Estão em voga atualmente não só a busca dos resultados, mas a construção do conhecimento através de modelos mentais, que são os limites que emergem da estrutura daquele conhecimento previamente adquirido – conhecimento esse que auxilia no entendimento de novas experiências e situações (BREWER, 1987). Além disso, o professor deve ajudar os alunos a tomar consciência dos erros cometidos, tornando-os construtivos (DAVIS e ESPÓSITO, 1990).

McARTHUR (1993) afirma que o uso de sistemas colaborativos não precisa ser necessariamente em ambientes síncronos. Alunos de uma mesma equipe podem trabalhar em materiais diferentes simultaneamente. Esse aspecto é interessante, pois a individualização é uma característica importante do processo ensino-aprendizagem; o próprio aluno pode definir sua melhor forma de aprender. Assim sendo, podem ser definidos ambientes que oferecem ferramentas de colaboração assíncrona, desligadas da necessidade de que todo o grupo esteja trabalhando um mesmo problema.

Segundo PINHO (1996), a educação deve ser encarada como processo de exploração, de descobrimento, de observação e construção da nossa visão e conhecimento.

Assim, o *Cd-rom* se apresenta um meio prático, barato, moderno e eficiente de distribuir e possibilitar que programas de aprendizagem e treinamento exibam sons, ilustrações, imagens, auto-avaliações interativas, etc. (SANTA ROSA, 1999).

A escolha do tema “Diluição, Titulação e Dosagem de Proteínas” – tarefas que exigem cálculos e conhecimentos básicos de matemática, muitas vezes assustadores aos profissionais da área biológica – se justifica pelo fato de diluição e titulação serem de extrema importância para a realização de vários imunoenaios, e tendo o aluno a possibilidade de testar seus conhecimentos quantas vezes forem necessárias, haverá uma familiarização com os métodos, facilitando a aprendizagem de novos temas relacionados.

Já a dosagem de proteínas é uma etapa de grande importância para laboratórios que trabalham com a obtenção, separação e purificação de proteínas, mas sua realização é trabalhosa, muitas vezes tornando impossível sua execução em aulas práticas.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

- Produzir material didático atualizado para profissionais egressos das instituições de ensino e graduandos dos diversos cursos da área Biológica e da Saúde.

3.2. Objetivos Específicos

- Possibilitar ao aluno melhor compreensão do assunto e melhorar os resultados obtidos nas aulas;

- Possibilitar a melhor compreensão dos processos de diluição e titulação, respectivos cálculos e dos métodos utilizados na dosagem de proteínas para as diferentes técnicas de laboratório;

- Proporcionar o aprendizado interativo, no qual o estudante tem a possibilidade de criar e resolver problemas seja com dados gerados por ele mesmo seja com dados já fornecidos no programa;

- Permitir aos profissionais egressos um recurso de atualização e educação continuada;

- Reduzir os gastos com reagentes durante as aulas práticas.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Diluição e Titulação

Quando se deseja avaliar a sensibilidade de um teste ou analisar quantitativamente uma amostra de soro, é necessária a realização de diluições que permitam encontrar a melhor concentração de anticorpos para a realização de um imunoenensaio. Caso haja um excesso de anticorpos (pré-zona) ou de antígenos (pós-zona) haverá uma inibição da interação antígeno-anticorpo. Quando esses reagentes estão em quantidades estequiométricas há uma significativa redução da probabilidade de uma reação inespecífica. As diluições são padronizadas com a mesma razão. Quando por exemplo é utilizada a razão 2, os tubos subseqüentes terão uma diluição duas vezes maior que os tubos precedentes. Para saber o título de anticorpos é realizada uma reação antígeno-anticorpo com cada diluição; a maior diluição da amostra com anticorpos que fornece o resultado positivo na presença do antígeno será o título do anticorpo (ROITT, 2004). O título de determinado soro varia com a sensibilidade do teste. Quando um indivíduo se encontra na fase aguda de um processo infeccioso o seu título de IgM será alto, ao passo que no processo crônico os níveis de IgG estarão elevados.

Muitos diagnósticos laboratoriais baseiam-se na avaliação quantitativa de Ag e/ou Ac presentes no soro do paciente. No caso da Febre Reumática, pesquisa-se a presença de ASO no soro dos pacientes através de seus anticorpos, ao passo que na pesquisa de CRP o antígeno é o alvo do estudo. Da mesma forma, anticorpos das classes IgM e IgG são rotineiramente quantificados quando se deseja avaliar ou inferir fase aguda ou crônica de um processo infeccioso (FERREIRA, 2001).

O fator de diluição é a razão entre o volume final e o inicial de uma amostra e é utilizado quando amostras diluídas são submetidas à análise fotométrica para determinação das suas concentrações.

$$FD = V_f/V_i$$

4.1.1. Febre Reumática

Epidemiologia:

Também conhecida como cardiopatia reumática ou reumatismo no sangue, a epidemiologia da febre reumática coincide com a da infecção da orofaringe pelo *Streptococcus* β -hemolítico do grupo A (PEREIRA, 2007). A ocorrência de febre reumática após epidemias de faringite estreptocócica é de 3%, taxa muito superior à observada em situações normais e é mais comum na faixa etária de 5 a 15 anos (PRESTES-CARNEIRO, 2005).

A febre reumática é uma complicação tardia de caráter auto-imune que, em indivíduos geneticamente suscetíveis, é desencadeada de uma a três semanas após o episódio de faringotonsilite atribuída ao *Streptococcus* β -hemolítico do grupo A de Lancefield (MOTA, 2002).

Sua designação como doença reumática vem do fato de afetar as articulações. As complicações mais graves são cardíacas (cardite) e pouco freqüentemente neurológicas (coréia) e dermatológicas (eritema marginado e nódulos subcutâneos) (CUNNINGHAM, 2000).

Os indivíduos com febre reumática apresentam uma combinação de fatores genéticos e imunológicos como marcadores em linfócitos B e de antígenos de classe II com diferentes alelos HLA-DR (WEIDEBACH, 1994). Há uma semelhança do patógeno com os antígenos dos tecidos humanos atingidos pela fase aguda da doença, processo conhecido como mimetismo genético (GUILHERME *et al*, 1995).

Quando há a infecção da orofaringe pelo *Streptococcus* β -hemolítico do grupo A, há também liberação de antígenos estreptocócicos, desencadeando resposta imunológica com sensibilização dos linfócitos T e B (FERREIRA, 2001) e a conseqüente formação de anticorpos estreptocócicos, que fazem uma reação cruzada com as estruturas do indivíduo doente, causando hipersensibilidade ao patógeno. Pode haver uma produção de auto-anticorpos contra a sinóvia, as cartilagens articulares, o miocárdio, as válvulas cardíacas e neurônios (FRASER, 1997).

O episódio agudo da febre reumática é autolimitado com duração de um a seis meses. A doença tende a recorrer, principalmente nos cinco primeiros anos após o surto inicial e nos pacientes com cardiopatia reumática prévia (CARAPETIS, 2005). Os episódios subseqüentes minimizam o inicial.

É importante ressaltar que a Febre Reumática é a causa mais freqüente de indicação de cirurgias cardíacas em adultos (SILVA, 1999).

Diagnóstico Clínico:

Os critérios de Jones (modificados) baseiam-se na divisão de achados clínicos em maiores ou menores de acordo com a importância diagnóstica (SPECIAL WRITING GROUP OF THE COMMITTEE ON RHEUMATIC FEVER, 1992). A presença de dois sinais maiores ou de um sinal maior e dois menores indica alta probabilidade diagnóstica, se acompanhados da evidência da infecção por *Streptococcus B* hemolítico (STOLERMAN, 2001).

Tabela 4.1.1.1- CRITÉRIOS DE JONES MODIFICADOS:

<p>Sinais Maiores:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Cardite 2. Poliartrite 3. Coréia* 4. Eritema marginado 5. Nódulos subcutâneos 	<p>Sinais Menores:</p> <p>Clínicos</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Febre reumática anterior ou doença cardíaca reumática 2. Artralgia 3. Febre <p>Laboratoriais</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Alterações das provas de fase aguda 2. Aumento do espaço P-R no eletrocardiograma
<p>Evidência de infecção estreptocócica anterior:</p> <p>Aumento dos títulos de anticorpos estreptocócicos (ASO e outros)</p> <p>Cultura de orofaringe positiva para estreptococos do grupo A</p> <p>Escarlatina recente</p>	

*Coréia é o único sinal maior que isoladamente pode diagnosticar um quadro de FR

FONTE: ALTO, 1992.

Por nenhum sinal ser específico de febre reumática, a presença de coréia ou cardite (valvulite mitral) permite uma maior segurança no diagnóstico.

A inespecificidade faz com que os critérios de Jones também sejam preenchidos por indivíduos portadores de outras doenças como artrite reumatóide juvenil, leucemia, anemia falciforme, e por isso recomenda-se excluir a possibilidade de outras patologias e evitar a infecção estreptocócica progressiva (CARAPETIS, 2005).

Diagnóstico Laboratorial:

Não há sintoma, sinal ou exame laboratorial que sejam específicos da cardiopatia reumática. O diagnóstico é complicado, e geralmente se dá pela combinação de fatores clínicos. Porém, a maioria dos erros diagnósticos acontece devido às diversas formas com que a doença se apresenta, sendo muitas vezes atípica (FELDMAN, 1996)

Os exames laboratoriais são valiosos auxiliares no diagnóstico e acompanhamento evolutivo da fase aguda.

As reações sorológicas de fase aguda constituem alterações inespecíficas, observadas durante a fase aguda de enfermidades infecciosas e inflamatórias. São elas:

- Velocidade de hemossedimentação (VHS): eleva-se logo ao início do surto; mantém certa proporcionalidade com a gravidade do episódio reumático; normaliza-se rapidamente com doses supressivas de ácido acetilsalicílico ou esteróides; não se eleva em casos de atividade reumática leve, coréia pura e em portadores de falcemias; costuma permanecer em níveis inferiores aos normais em reumáticos em fase aguda com insuficiência cardíaca congestiva.

- Pesquisa de proteína C-reativa: a presença da proteína C-reativa é constante nas primeiras duas semanas da doença, sendo sua ausência em testes repetidos a prova de erro de diagnóstico, a menos que o paciente tenha sido submetido a doses supressivas de antiinflamatórios. Em tratamento, o reaparecimento da proteína C-reativa indica inadequação nas doses dos medicamentos. Essa proteína pode ser encontrada no soro de pacientes com insuficiência cardíaca congestiva de qualquer origem.

- Elevação das mucoproteínas

- Alterações das proteínas plasmáticas
- Leucocitose

As provas que evidenciam a existência de infecção estreptocócica anterior são:

- Isolamento do estreptococo: apesar de a febre reumática se desenvolver habitualmente quando se remitem as manifestações agudas da estreptococcia, é rotina a tentativa de isolar o *Streptococcus* B-hemolítico da faringe do hospedeiro.

- Pesquisa de ASO: a elevação dos anticorpos anti-enzimas estreptocócicas pode ser detectada em 100% dos indivíduos afetados. O limite normal máximo após os cinco anos de idade é 333 unidades Todd.

Prevenção:

É importante fazer a prevenção daqueles pacientes que já possuem uma história anterior de dores de garganta com febre alta. Mas a profilaxia da FR não deve ser exclusiva dos pacientes reumáticos. Medidas simples de higiene, moradias de qualidade com boa ventilação e a busca de diagnóstico correto, com cultura de bactérias, antibiograma e antibiótico-terapia constituem a melhor prevenção contra a febre reumática (MOTA, 2002).

4.1.2. Proteína C-reativa

A proteína C-reativa (CRP) é uma β -globulina encontrada no soro de indivíduos com doença inflamatória diversa que, por ter a capacidade de precipitar seletivamente o extrato de pneumococo (substância "C"), foi originalmente associada à pneumonia.

As concentrações desta proteína aumentam em até 1000 vezes no soro e nos fluidos corporais de indivíduos com doenças infecciosas diversas, com atividade inflamatória de origem não infecciosa e com certos estados malignos sendo, por isto, conhecida também como proteína de fase aguda.

A CRP é uma excelente opsonina, facilitando a internalização dos patógenos infecciosos pelos fagócitos e atualmente vem sendo utilizada também como um importante marcador do risco cardiovascular.

Embora de caráter inespecífico para fins de diagnóstico, a CRP se mostra um excelente marcador da resposta do hospedeiro ao tratamento. Algumas condições nas quais a CRP está quase sempre elevada são febre reumática, artrite reumatóide, artrite reumatóide juvenil, infecções bacterianas agudas e hepatites virais; tuberculose ativa, tumores malignos avançados, hanseníase, cirrose, queimaduras generalizadas e peritonite. Esclerose múltipla, escarlatina, varicela, estados pós cirúrgicos, síndrome Guillain-Barré e utilização de dispositivos intrauterinos algumas vezes apresentam aumento da CRP (ANTUNES, 1992).

A elevação dos reagentes de fase aguda provavelmente represente uma resposta às citocinas, incluindo IL-1, TNF, IFN- γ e IL-6.

A quantificação dos mediadores inflamatórios é uma excelente forma de monitorar estágios da aterosclerose e ainda, a presença de biomarcadores inflamatórios pode auxiliar na predição de indivíduos com maior risco vascular e aparentemente saudáveis. De acordo com estudos recentes, a CRP tem se mostrado um importante medidor de risco de futuros infartos e derrames (já que o processo inflamatório está intimamente implicado na gênese, na progressão e na ruptura da placa aterosclerótica (LIMA, 2007). Aliando-se aos exames rotineiros de colesterol e triglicérides, a pesquisa da CRP pode atuar como grande marcador de risco cardíaco. Baseando-se no conjunto de trabalhos epidemiológicos a este respeito, a recente publicação da American Heart Association e do Center for Disease Control sugere que 3mg/l sejam considerados o ponto de corte para definir indivíduos de alto risco cardiovascular de acordo com seu *status* inflamatório (PEARSON, 2003).

A CRP pode ser determinada qualitativa e quantitativamente pelo método de aglutinação passiva. Esta técnica apresenta algumas vantagens em relação a outros testes porque elimina o erro visual do teste de microprecipitação capilar, é menos trabalhosa do que a fixação do complemento e mais rápida do que a difusão em gel.

No teste de CRP-Látex L/B as partículas de látex poliestireno biologicamente inertes são revestidas com anti-CRP obtido por imunização animal. Na aplicação do princípio de fixação do látex, a CRP dos soros dos pacientes atua

como antígeno adsorvido ao látex e, quando o soro contendo CRP é misturado com o reagente do látex, ocorre uma precipitação macroscopicamente visível.

Quando há a necessidade de avaliar qualitativamente a presença de CRP no soro de algum paciente com suspeita de inflamações de origens diversas é realizada a triagem. Já na necessidade do teste quantitativo, é realizada a titulação do soro.

4.1.3. Pesquisa de Anti-Estreptolisina O

A Estreptolisina O é uma das toxinas produzidas pelas várias espécies de *Streptococcus* β -hemolítico o grupo A de Lancefield. Assim que o organismo é infectado, o patógeno excreta essa enzima e o hospedeiro produz os anticorpos – a anti-estreptolisina O (ASO). A presença do anticorpo se faz notar de uma semana um mês após a infecção com o estreptococo.

A pesquisa de ASO é utilizada para o diagnóstico laboratorial de doenças de importância mundial como a Febre Reumática. A determinação do título desse anticorpo pode auxiliar na avaliação do grau de infecção pelo estreptococo.

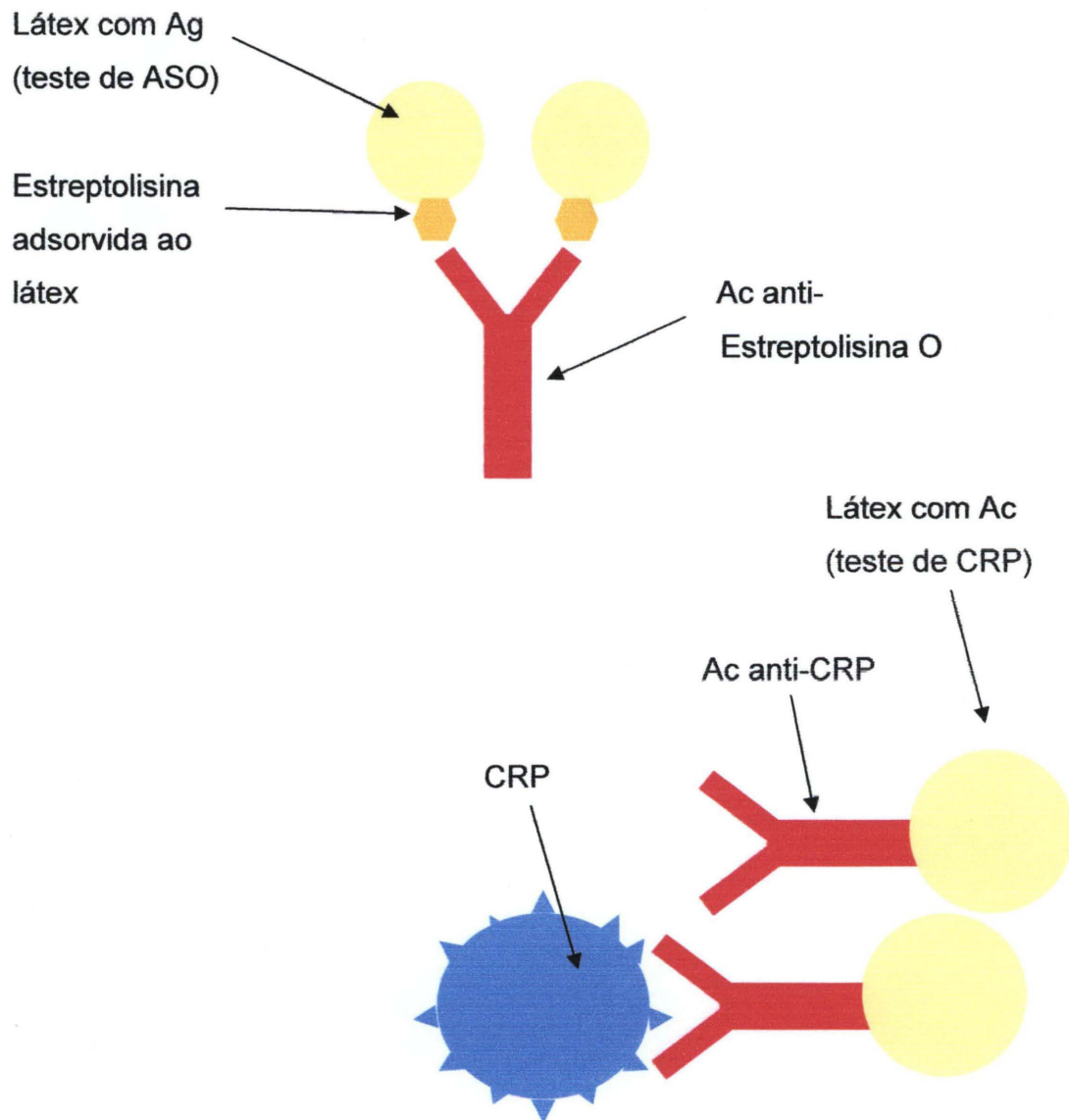
Praticamente todo soro contém ASO em certo grau, já que todos os organismos estão em constante contato com exoenzimas estreptocócicas (IN VITRO, 2007).

4.1.4. Diferenças entre CRP e ASO

No exame da CRP, o anticorpo impregnado no látex é adquirido através da imunização de coelhos e é conhecido como anti-CRP. Como esse teste é feito para detectar uma proteína e não um agente infectante, o hospedeiro não possui anticorpos contra essa substância. O que irá reagir com o látex será a própria CRP, que atuará como antígeno.

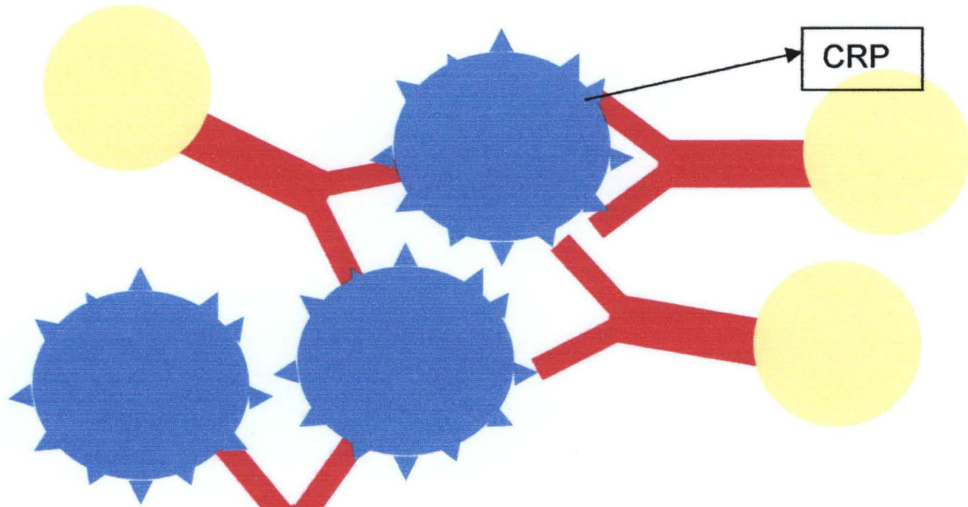
Já no teste da Anti-Estreptolisina O (ASO), serão determinados os níveis de anticorpos produzidos pelo paciente contra a proteína (ASO) do patógeno. O

látex estará impregnado com a Estreptolisina-O (antígeno) e o soro do indivíduo infectado terá ASO, dando o resultado positivo.

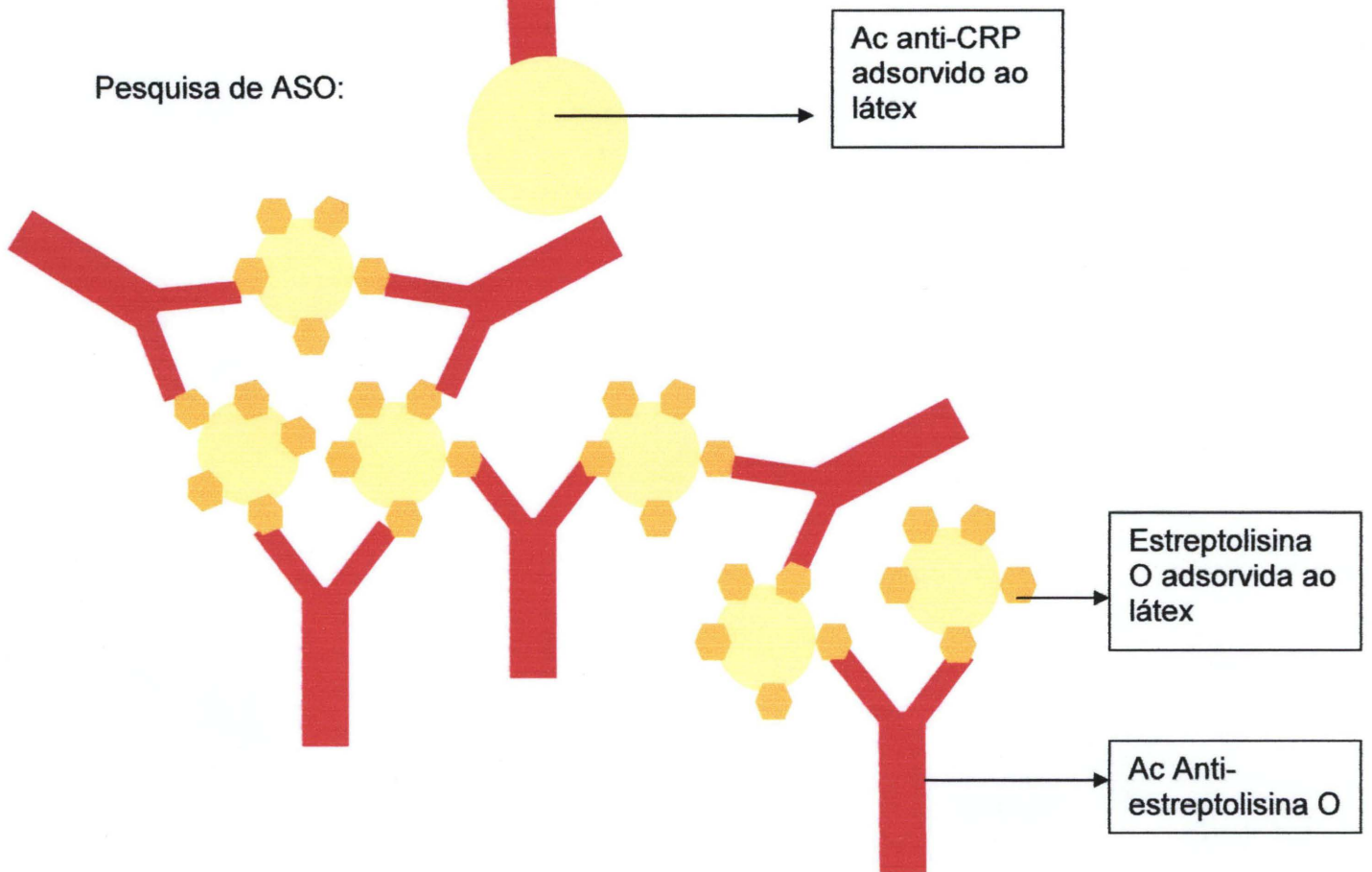


ANIMAÇÃO DA AGLUTINAÇÃO E DAS LIGAÇÕES COVALENTES

Pesquisa de PCR:



Pesquisa de ASO:



4.2. Dosagem de Proteínas

A dosagem de proteínas é um método versátil baseado na adição de reagentes em diferentes titulações de uma solução, levando a uma mudança de coloração. Essa diferença é medida através de um espectrofotômetro, em comprimento de onda de 600 nm. Os valores obtidos são comparados com os de uma curva padrão com concentrações já conhecidas.

A dosagem de proteínas pode ser utilizada nos ensaios com antígenos purificados, para estudos de proteínas em ensaios e no diagnóstico de doenças relacionadas a muitos sistemas, como nefropatias, hepatopatias, neoplasias (GOLD) e também no controle nutricional de animais de interesse zootécnico, como gado leiteiro, visando a qualidade do leite e seus derivados (CARDOSO, 2007).

Existem vários métodos para o ensaio, cada um com limitações e vantagens de acordo com a proteína ou a solução tampão utilizadas. O método de Bradford tem se mostrado mais eficaz, tendo sua eficiência reduzida apenas por grandes quantidades de detergentes (BRADFORD, 1972).

Esse método simples, utilizado para a dosagem total de proteínas, consiste na ligação do corante *Coomassie Brilliant Blue G-250* com a proteína que resulta na inversão do pico de absorção do corante de 450 para 595 nm. Utiliza-se como padrão a albumina purificada em diluição 1:10, e as amostras em diluição 1:10 ou 1:5. A reação se dá ao abrigo da luz, por 15 minutos. Então compara-se a absorvância de cada amostra com a mais próxima da curva padrão.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Na fase de criação, diversas ferramentas computacionais disponíveis no mercado foram utilizadas, cada uma para obter diferentes materiais. As escolhas foram feitas satisfazendo os objetivos pedagógicos e computacionais da elaboração do interativo. Sendo assim, as ferramentas que chamamos de auxiliares são as seguintes:

- Adobe® Photoshop® 6.0 – trabalho profissional. Utilizado para manipular diversos formatos e padrões de imagem.

- PaintBrush10® – Ferramenta de criação de figuras simples, utilizado para se fazer pequenos segmentos, quadrados e círculos, além da inserção de legendas.

- Microsoft Word® – Ferramenta de edição de texto, utilizado para elaboração dos textos que posteriormente foram transferidos para o programa de criação do interativo.

- Microsoft Excel® – Ferramenta de análise de informações, utilizada para elaboração de tabelas e gráficos ilustrativos.

As animações foram, sempre que possível, integradas aos exercícios e explicações, facilitando a compreensão dos temas.

Os modelos de representação dos dados e todos os trabalhos de programação de computador foram realizados pelo professor Remy Lessnau, com *software* específico e apropriado ToolBook®, disponível no Setor de Ciências Biológicas.

Em cada capítulo as técnicas e explicações foram minuciosamente analisadas e revisadas, aumentando a eficiência do aprendizado, através de abordagem simples e direta dos procedimentos de laboratório por parte dos usuários do interativo.

5.1. Descrição do Método de Pesquisa de Proteína C-reativa

O objetivo da pesquisa é determinar quantitativamente a presença da proteína C-reativa no soro de pacientes com suspeita de condições inflamatórias diversas.

Material necessário:

- Reagente do látex CRP L/B: consiste em uma suspensão de partículas de látex poliestireno em tampão salina glicina pH 8,2. As partículas de látex estão revestidas com anticorpos anti-CRP humana produzidos em animais. Sensibilidade = 0,65 mg/l de CRP;
- Soro CRP controle positivo: soro humano estabilizado, pronto para uso, contendo proteína C-reativa como antígeno;
- Soro CRP controle negativo: soro humano estabilizado, pronto para uso;
- Solução tampão salina glicina concentrada; para uso diluir 1:20;
- Soro teste, separado o mais breve possível do coágulo. Não se deve usar plasma, pois o fibrinogênio pode causar agregação inespecífica das partículas de látex.
- Micropipeta de 30 μ L;
- Ponteiras plásticas descartáveis;
- Placa de vidro quadriculada para reação de aglutinação;
- Bastões descartáveis para homogeneização das amostras;

Execução da técnica:

- Preparar uma série de diluições de razão 2 dos soros positivos no tampão de trabalho iniciando com a diluição de 1:4. As diluições devem ser efetuadas para se determinar o título do soro, ou seja, a maior diluição do soro que ainda apresenta uma aglutinação visível.
- Colocar uma gota de cada diluição do soro nas áreas de testes da lâmina que acompanha o *kit*. A mesma pipeta pode ser usada para transferir todas as diluições de um dado soro para a lâmina de testes, desde que se inicie a pipetagem partindo da maior diluição para a menor diluição do soro.
- Colocar uma gota dos controles positivo e negativo nas áreas específicas da lâmina;

- Agitar vigorosamente o reagente para dispersar e ressuspender as partículas de látex na solução tampão.

ATENÇÃO: Se o látex não for bem homogeneizado antes do uso, poderá fornecer resultados falso positivos.

- Colocar uma gota do reagente de látex homogêneo em cada área da lâmina com as diluições.

- Homogeneizar as misturas soro-reagente em cada área do teste, com o bastão, misturando e espalhando em toda área delimitada da lâmina.

- Agitar a lâmina manualmente, com um movimento suave (20-40 rpm) durante 2 minutos. Não utilizar agitador rotatório.

- Observar a presença ou ausência de aglutinação após terem sido decorridos dois minutos, com uma luz apropriada. Não utilizar microscópio.

Para expressar o resultado em mg de CRP p/litro utilizar a fórmula:

Diluição x 6,5 mg CRP p/litro = mg CRP/litro,

Sendo que o valor de 6,5 corresponde à sensibilidade do reativo p/litro.

Observações:

- Grânulos finos do reagente do látex não devem ser interpretados como um resultado positivo. A comparação com o teste controle negativo facilitará o reconhecimento de uma aglutinação significativa.

- Lipídeos e soros maciçamente contaminados podem dar resultados falsamente positivos.

- Devido à possibilidade do fenômeno de pró-zona, o teste deve ser interpretado como negativo quando for efetuado com o soro diluído a 1:10.

- Num teste qualitativo a qualidade de aglutinação não é diretamente proporcional à concentração de CRP presente na amostra. Todo teste qualitativo positivo deverá ser titulado.

Tabela 5.1.1 - CORRESPONDÊNCIA DOS VALORES DA DILUIÇÃO E CONCENTRAÇÃO EM MG/L

Título	Concentração (mg/l)
1:1	6,5
1:2	13
1:4	26
1:8	52
1:16	104
1:32	208
1:64	416
1:128	832
1:256	1664
1:512	3228

FONTE: LABORCLIN

5.2. Descrição do Método de Pesquisa de ASO

Esse exame tem como objetivo determinar qualitativamente a presença de anticorpos anti-estreptolisina-O em soro de pacientes, auxiliando o diagnóstico de diversas doenças.

Material Necessário:

- Reagente do látex ASO L/B: consiste em uma suspensão de partículas de látex poliestireno revestidas com a enzima estreptocócica estreptolisina-O estabilizada 1,0 %; Azida sódica 0,095%;
- Soro ASO controle positivo: soro humano estabilizado, pronto para uso, contendo anti-estreptolisina-O como anticorpo;
- Soro ASO controle negativo: soro humano estabilizado, pronto para uso;
- Solução tampão salina glicina concentrada; para uso diluir 1:20;
- Soro teste, separado o mais breve possível do coágulo. Não se deve usar plasma, pois o fibrinogênio pode causar agregação inespecífica das partículas de látex.
- Micropipeta de 30 μ L;

- Ponteiras plásticas descartáveis;
- Placa de vidro quadriculada para reação de aglutinação;
- Bastões descartáveis para homogeneização das amostras;

Execução da técnica:

- Preparar uma série de diluições de razão 2 dos soros positivos no tampão de trabalho iniciando com a diluição de 1:4. As diluições devem ser efetuadas para se determinar o título do soro, ou seja, a maior diluição do soro que ainda apresenta uma aglutinação visível.

- Colocar uma gota de cada diluição do soro nas áreas de testes da lâmina que acompanha o *kit*. A mesma pipeta pode ser usada para transferir todas as diluições de um dado soro para a lâmina de testes, desde que se inicie a pipetagem partindo da maior diluição para a menor diluição do soro.

- Colocar uma gota dos controles positivo e negativo nas áreas específicas da lâmina;

- Agitar suavemente o reagente para dispersar e ressuspender as partículas de látex na solução tampão;

ATENÇÃO: Se o látex não for bem homogeneizado antes do uso, poderá fornecer resultados falso positivos.

- Colocar uma gota do reagente de látex homogêneo em cada área da lâmina com as soluções.

- Homogeneizar as misturas soro-reagente em cada área do teste, com o bastão, misturando e espalhando em toda área delimitada da lâmina.

- Agitar a lâmina manualmente, com um movimento suave (20-40 rpm) durante 2 minutos ou utilizar um mixer com rotação de 100 RPM.

- Observar a presença ou ausência de aglutinação após terem sido decorridos dois minutos, com uma luz apropriada. Não utilizar microscópio.

Para expressar o resultado em UI/ml, realizar o seguinte cálculo:

Diluição x 200 =UI/ml,

Sendo que o valor de 200 corresponde ao fator de conversão.

Observações:

- Grânulos finos do reagente do látex não devem ser interpretados como um resultado positivo. A comparação com o teste controle negativo facilitará o reconhecimento de uma aglutinação significativa.
- Lípidos e soros maciçamente contaminados podem dar resultados falsamente positivos.
- Devido à possibilidade do fenômeno de pró-zona, o teste deve ser interpretado como negativo quando for efetuado com o soro diluído a 1:10.
- Num teste qualitativo a qualidade de aglutinação não é diretamente proporcional à concentração de ASO presente na amostra. Todo teste qualitativo positivo deverá ser titulado.

Tabela 5.2.1. CORRESPONDÊNCIA DE VALORES DE DILUIÇÃO E CONCENTRAÇÃO:

Título	Concentração
1+1 (1:2)	200
1+2 (1:3)	400
1+3 (1:4)	600
1+4 (1:5)	800

FONTE: IN VITRO

5.3. Descrição do Método de Bradford para Dosagem de Proteínas (BRADFORD, 1972)

Preparação da solução estoque de Coomassie (5X):

- Dissolver 10 mg de Coomassie Blue G-250 em 50 ml de etanol em tubo Falcon de 50 mL em gelo;
- Gotejar (de 2 em 2 mL) 10 mL de ácido fosfórico 85% homogeneizando sempre;
- Completar o volume para 100 mL com água destilada;
- Filtrar em papel filtro de 45 μ m e, posteriormente, filtrar novamente utilizando uma seringa de 50 mL acoplada a um filtro de 22 μ m;
- Acondicionar o reagente em frasco âmbar em geladeira;

Obtenção de curva-padrão e concentração protéica da amostra problema:

- Diluir o corante de Coomassie a partir da solução estoque com água deionizada (1 parte de corante para 4 partes de água). Serão empregados 200 μ L de solução diluída para cada amostra;
- Adicionar diferentes volumes da solução-padrão de forma a obter pelo menos cinco pontos para a curva. Cada ponto deverá ser gerado em duplicata e a média dos valores utilizados para a construção da reta média (absorbância no eixo da ordenadas e concentração protéica no eixo das abscissas);
- Adicionar diferentes volumes da amostra. Utilizar as amostras em diluição 1:10 ou 1:5. O volume de amostra ou solução-padrão não deverá exceder 20 μ L (ou seja, 10% do volume de corante adicionado);
- Deixar reagir por 15 minutos no escuro;
- Ler a absorbância em comprimento de onda de 595 nm;
- Construir gráfico de concentração pela absorbância, calcular a reta média e determinar a concentração protéica da amostra-problema por comparação com a reta média.
- Ou, alternativamente, comparar a absorbância de cada amostra com a absorbância mais próxima correspondente a um ponto da curva padrão.

5.4. Metodologia

A revisão da literatura tanto impressa quanto virtual, deu início à produção do interativo. Além disso, foram acompanhadas dosagens de proteínas com estagiários do Laboratório de Neurobiologia do Departamento de Patologia Básica.

Grande parte do material impresso teve que ser comparado a publicações mais recentes dos mesmos autores. Esse cuidado foi necessário para que fosse assegurado que o material presente no Cd-rom fosse o mais atualizado possível. Além disso, os sítios “on-line” possuem informações relevantes de extrema importância e riqueza de imagens e ilustrações.

Para a observação das dosagens de proteínas foi estabelecido contato com os responsáveis e estagiários do Laboratório de Imunologia, localizado no Setor

de Ciências Biológicas no Campus III – Politécnico – da UFPR, nesta capital. Os procedimentos realizados para a dosagem de proteínas foram acompanhados e as metodologias anotadas. As anotações foram posteriormente descritas visando a maior fidelidade ao processo.

5.5. Construção do Interativo

Com todas as informações em mãos teve início a fase de elaboração do material destinado ao interativo, obedecendo ao padrão dos capítulos que anteriormente já haviam sido escritos. Os dados foram expressos das mais variadas formas. Em cada capítulo as técnicas e explicações foram minuciosamente analisadas e revisadas, aumentando a eficiência do aprendizado, através de abordagem simples e direta dos procedimentos de laboratório por parte dos usuários do interativo.

5.6. Elaboração do Texto Interativo

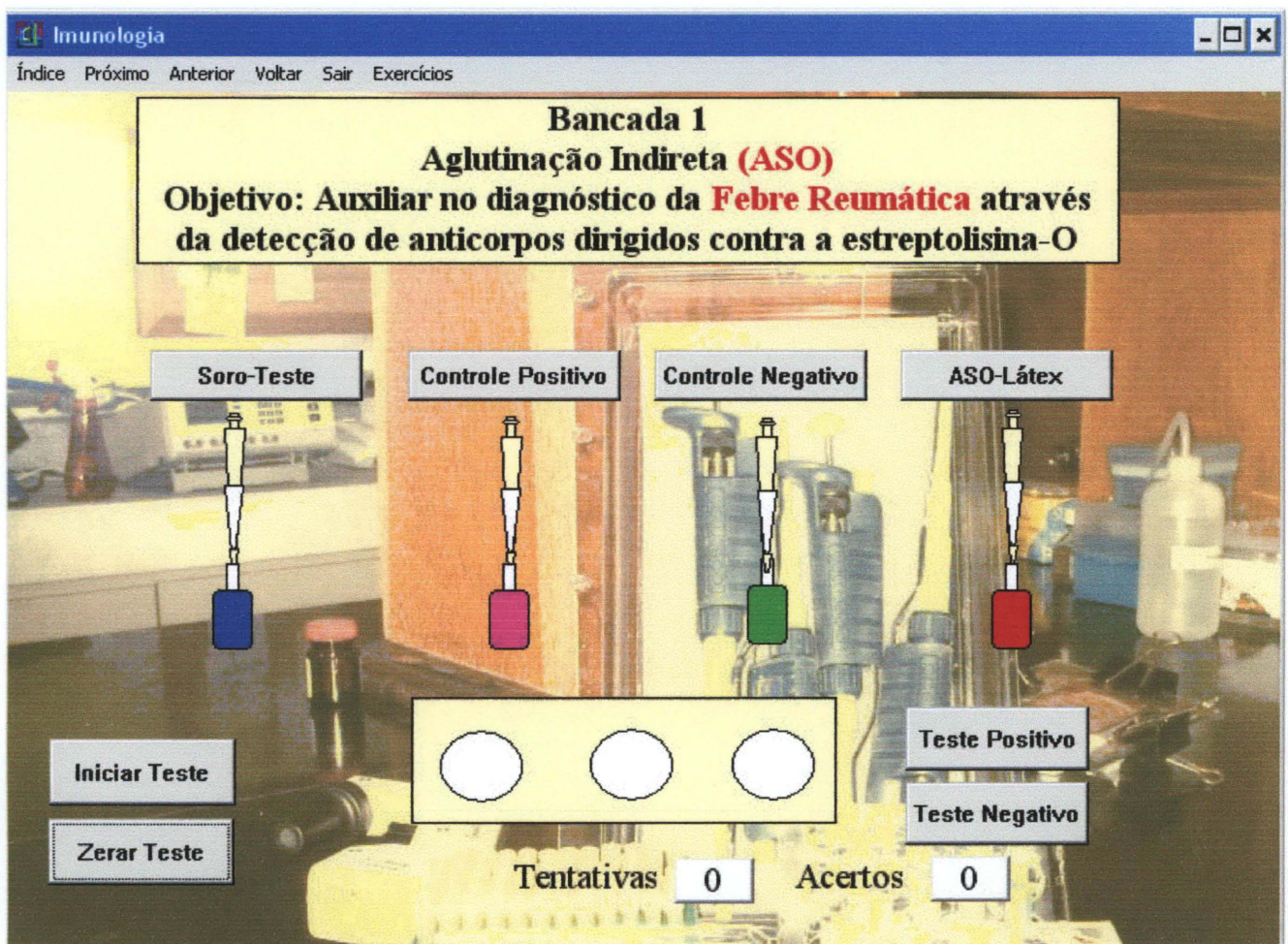
Após a organização das idéias, foram definidas as áreas onde residiam as maiores dificuldades de entendimento por alunos e profissionais. Foram analisados aspectos como cálculos, utilidade dos procedimentos, padronização, protocolos, etc. A partir desse reconhecimento, os textos foram elaborados de forma a responder essas questões, sendo sempre que possível associados a figuras e ilustrações elucidativas. A fim de torná-los dinâmicos e simples, tentou-se elaborar textos curtos e claros, facilitando sua leitura e entendimento.

6. DISCUSSÃO

6.1. Interativo

Como não é viável a impressão de todos os exercícios do capítulo “Diluição e Titulação” do interativo, foram escolhidos dois exercícios do mesmo problema. São representados aqui os seguintes objetos gráficos:

- Pipeta,
- Recipientes contendo soro, controles e antígeno,
- Lâminas com 3 e 9 poços,
- Tubos de ensaio.



Imunologia

Índice Próximo Anterior Voltar Sair Exercícios

Coloque uma gota de cada diluição nas áreas de teste da lâmina.

1:4 1:8 1:16 1:32 1:64 1:128 1:256

Controle +
Controle -

CRP-Látex Controle Positivo Controle Negativo

7. CONCLUSÃO

A possibilidade de utilização de softwares como ferramenta auxiliar na apresentação dos conteúdos já é bem conhecida, embora essa opção não seja muito utilizada pelos docentes. Esse interativo objetiva ampliar as opções para dar suporte à exposição das aulas pelos professores, além de oferecer uma oportunidade extra para o entendimento de assuntos aparentemente complexos.

O computador não deve ser visto como instrumento para mudança radical no panorama de ensino, mas sim como um aliado do (ao) processo educacional que vem se modificando gradativamente em nossa sociedade cada vez mais tecnológica. Assim sendo, o *cd-rom* de maneira alguma vem a substituir o professor, Este tem um papel imprescindível como mediador na execução dos exercícios presentes nesse capítulo, assim como na apresentação prévia dos assuntos.

Da mesma forma, esse programa multimídia não tem como objetivo ser um mero recurso à literatura impressa. Visa simular situações reais, como ensaios sorológicos, mas reduzindo o custo, a possibilidade de contaminação e erros na elaboração desses testes. Aliado a isso, objetiva incentivar o aluno com uma apresentação interessante, que prenda a atenção e proporcione um aprendizado efetivo. Como o resultado dos exercícios é escolhido por sorteio, uma gama de possibilidades é abrangida com a repetição dos mesmos.

Durante o processo de elaboração do interativo, diversas dificuldades foram encontradas para atingir as metas nesse novo cenário didático. O levantamento bibliográfico foi iniciado em 2004 e a idéia do *cd-rom* como interativo ainda parecia distante. Muitas informações foram coletadas sem a devida sistematização, sendo que muito tempo e esforço foram desperdiçados por inexperiência. Outra dificuldade apresentou-se no início da criação efetiva. Apesar de bom embasamento teórico parecia impossível produzir exercícios que fossem inéditos e que atendessem à realidade imposta em um Laboratório de Imunologia. À medida que o material bibliográfico foi revisado e as barreiras foram ultrapassadas, o processo de produção foi fluindo com maior facilidade.

Ao final do trabalho, quando o interativo já estava concluído, cresceu a expectativa de poder apresentar os exercícios aos alunos de graduação, para que estes pudessem avaliar os problemas e dar sugestões, uma vez que o *cd-rom* não é um trabalho final; deve ser atualizado e revisado sempre que necessário.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTO, W. A.; GIBSON, R. **Acute Rheumatic Fever, An Update.** American Family Physician. Vol 45, n.2 – Fev 1992.
- ANTUNES L. J. , MATOS K. T. F. **Imunologia Médica.** Livraria Ateneu. São Paulo/Rio de Janeiro. 1992.
- ASTOLFI, J.P.; DEVELAY, M. **A didática das Ciências.** Papirus. Campinas, SP. 1990.
- BECK, J. *et al.* **Applications of A>I> in Education: the ACM's First Electronic Publication.** Disponível em <http://www.acm.org/crossroads/xrds3-1/aied.html>. Acessado em 15 out 2006.
- BERNARDI, G.; CASSAL, M. L. **Proposta de um Ambiente de Ensino e Aprendizagem Utilizando Jogos e a Realidade Virtual.** In: XIII Simpósio Brasileiro de Informática na Educação. São Leopoldo, RS.2002.
- BRADFORD, M. **A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding.** Analytical Biochemistry, vol 73 (1-2), P. 248-254, 1972.
- BREWER, W. F. **Schemas Versus Mental Models in Human Memory.** In: P. Morris (Ed), Modeling Cognition. Chichester, England. 1987.
- CARAPETIS, J.R. *et al.* **The global Burden of Group A Streptococcal Diseases.** Lancet Infectuous Diseases Journal. Vol 5, Pág 685 – 694. Nov 2005.
- CARAPETIS, J.R. *et al.* **Acute Rheumatic Fever.** Lancet Infectuous Diseases Journal. Vol 366, Pág 155 – 168. Jul 2005.

CARDOSO, M. **Balanceamento Adequado, Sinônimo de Saúde.** Fazenda Oitica. Disponível em http://www.fazendaoitica.com.br/reportagens_janeiro.html Acessado em 21 mai. 2007.

CARDOSO, S.H. **Utilizando Simulações no Ensino Médico.** Informática Médica Vol 1, n.4 – Jul/Ago, 1998. Disponível em <http://www.informaticamedica.org.br/informaticamedica/n0104/cardoso.htm> Acessado em 12 out. 2006.

CUNNINGHAM, M. W. **Pathogenis of group A streptococcal infections.** Clin. Microbiol. Rev. Vol 13, pg 470-511. 2000.

DAVIS, C.; ESPSITO, Y.L. **Papel e Função do Erro na Avaliação escolar.** Cad. Pesq. São Paulo. Agosto, 1990.

ESTANQUE, E.; NUNES, J. A. **Dilemas e desafios da Universidade: Recomposição Social e Expectativas dos estudantes na Universidade de Coimbra.** Revista Crítica de Ciências Sociais, 66 (5-44), Centro de Estudos Sociais, 2003.

FELDMAN, T. **Rheumatic Heart disease.** Curr. Op. Cardiol. Vol 11, pg 126-30. 1996.

FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S.L.M. **Diagnóstico Laboratorial.** Rio de Janeiro, RJ, Guanabara Koogan, 2001.

FRASER, W. J.; *et al.* **Rheumatic Aschoff nodules revisites II. Cytokine expression corroborates recently proposed sequential stages.** Histopathol, 31, 1997.

GOLD ANALISA DIAGNÓSTICA. Proteínas Totais – PP, Instruções de Uso. Circulação.

GUILHERME, L. et al. Human infiltrating T cell clones from rheumatic heart disease recognize both streptococcal and cardiac cells. Circulation. 92, pg 415-20. 1995.

IN VITRO DIAGNÓSTICA; HUMAN. HUMATEX ASO SC. Itabira, MG. Rev Mai 07.

IN VITRO DIAGNÓSTICA. Estreptolisina O. Instruções de Uso. Circulação.

KATZ, S. Identifying the Support Needed in Computer-Supported Collaborative Learning Systems: Proceedings of Computer Support for Collaborative Learning Conference. The First International Conference on Computer Support for Collaborative Learning. Indiana, USA, 1995.

KENSKI, V. M. Tecnologia e Ensino Presencial e a Distância. Campinas, SP. Papyrus, 2003.

LABORCLIN. PCR-Látex L/B – Teste de Aglurinação para a detecção e quantificação da Proteína C Reativa no Soro. Instruções de Uso. Circulação.

LIMA, J. C. C. et al. Validação da medida de proteína C-reativa de alta sensibilidade (PCR-as) pro quimioluminescência para estimatía de risco cardio-vascular em indivíduos laboratoriais: análise comparativa com nefelometria. J. Bras. Patol. Med. Lab., Rio de Janeiro, v. 41, n. 1, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442005000100005&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 19 mai 2007. Pré-publicação.

McARTHUR, D.; LEWIS, M.; BISHAY, M. **The Roles of Artificial Intelligence in Education: Current Progress and Future Prospects.** Santa Monica, USA, 1993. Disponível em: <http://www.rand.org/hot/mcarthur/Papers/role.html> Acesso em 14 out. 2006.

MOTA, C.C.C.; MEIRA, Z. M. A. **A Prevenção da Febre Reumática.** Rev. Med.Minas Gerais Vol 12 (3 Suplemento1). Pg 3-5. 2002

PEARSON, T. A. *et al.* **Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a Statement for Healthcare Professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association.** *Circulation*, v. 107, p. 499-511, 2003.

PRESTES-CARNEIRO, L. E.; ACÊNCIO, E. S. L.; POMPEI, A. C. S. C. **Determinação de anti-estreptolisina "O" e proteína C-reativa entre escolares do município de Laranjal, PR.** Rev.Soc. Bras. Med. Trop., vol 38 (1) 67-68, Jan/fev 2005.

PINHO, M. S. **Realidade Virtual como ferramenta de informática na Educação.** Instituto de Informática/ Centro de Informática na Educação PUCRS, 1996. Disponível em: <http://grv.inf.pucrs.br/Pagina/Educa/educa.htm>. acessado em 13 dez. 2006.

ROITT, I. M. ;DELVES, P.J. **Fundamentos de Imunologia.** Rio de Janeiro, RJ, Guanabara Koogan, 2004.

SANTA ROSA G. L. **Educação à Distância: Ações Estratégicas.** 1999. Disponível em: <http://multipolo.com.br/histologia/educdist3.htm> Acessado em 24 jul. 2006.

SHANK, R. **Case-Based Teaching: Four Experiences in Educational Software Design.** Technical Report N.7, Institute of Learning Sciences.

SPECIAL WRITING GROUP OF THE COMMITTEE ON RHEUMATIC FEVER, **Endocarditis, and Kawasaki disease of the council on cardiovascular**

disease in the young of the american heart association. Guidelines for the diagnosis of rheumatic fever: Jones criteria. 1992 update. JAMA, 1992; 268:2069-73.

SILVA, C. H. M. Febre reumática: Um estudo multicêntrico no estado de São Paulo. Rev. Hosp. Clin., São Paulo, v. 54(3), 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0041-87811999000300004&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 19 Mai 2007. Pré-publicação.

STOLERMAN, G. H.; Rheumatic Fever in 21st Century. Clin Infec Dis. 3, pg 806-14. 2001.

URBAN-LURAIN, M. Intelligent Tutoring Systems: an Historic Review in the Context f Development of Artificial Intelligence and Educational Psychology. Disponível em <http://www.cse.msu.edu/rqgroups/cse101/ITS/its.htm> . Acessado em: 13 out. 2006.

WEIDEBACH, W. et al. HLA class II antigens in Rheumatic Fever: analysis of the DR locus by RLFP and Oligotyping. Hum Immunol vol 40: pg 253-58.1994.

9. BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

MORAES, S. P. AMSTALDEN NETO A.; SANCHES F.L.; QUILICI F.A. **Valor da Dosagem do Antígeno Carcino-Embrionário, da Fosfatase Alcalina e da Gama-glutamil Transpeptidase no Seguimento de Pacientes com Câncer de Cólon e de Reto.** Rev Bras Coloproct, vol 23 (3), p. 163-167, julho/setembro 2003.

OLIVER, R.; OMARI, A.; KNIBB, K. **Increasing Collaborative Computer-based Learning Environments with the World Wide Web.** ASCILITE'97: Dez, 1997.

PEREIRA, R. M. R.; SCHAINBERG, C. G. **Doenças Reumáticas Juvenis.** Ed. Univ. SP. São Paulo, 2007.

RICHARDSON, D. **Student Perceptions and Learning Outcomes of Computer-assisted Versus Tradicional Instruction in Physiology.** Advances in Physiology Education 18: (1), Dez 1997.

GUGLIELMI, L. G. **Desenvolvimento da Vacina para a Prevenção da Febre Reumática.** Simpósio Diagnóstico Laboratorial de Doenças Infecciosas e Parasitárias: Insumos Estratégicos.

VALENTE, J.A. **Informática na Educação: Instrucionismo X Construcionismo.** In: Anais do IX ENDIPE (Encontro Nacional de Didática e Prática de Ensino), Águas de Lindóia, 1998.

10. SÍTIOS RECOMENDADOS

Febre Reumática: <http://www.nib.unicamp.br/svol/febrereumatica.html> e <http://www.orl-br.com.br/febrereumatica.html>

Manuais de Cardiologia. Disponível em: <http://www.manuaisdecardiologia.med.br/reumato/FR1.html>

World Health Organization. **The Current Evidence for the Burden of Group A Streptococcal Diseases.** – Department of Child and Adolescent Health and Development, Department of Immunization, Vaccines and Biologicals. Disponível em: who.int/child-adolescent-health/publications/CHILD_HEALTH/DP/Topic_2/paper_1.htm