ISSN 2448-3877

SBAC

RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas

Brazilian Journal of Clinical Analyses

Volume 49 - Nº 04 | Ano 2017

50 ANOS SBAC

50 ANOS DE COMPROMISSO ACIMA DE TUDO SOCIAL: EDUCAR E FOMENTAR O CONHECIMENTO E O DESENVOLVIMENTO NO CAMPO DAS ANÁLISES CLÍNICAS.

2018

Videoaulas exclusivas para associados



- EAD em Gestão e Qualidade
- Nova categoria Sócio Empresarial
- Processo inovador de comunicação digital para laboratórios associados

Venha fazer parte de nossa história!
Acesse **www.sbac.org.br**
e confira nosso diferencial.

R. Vicente Licínio, 99
Tijuca - Rio de Janeiro - RJ
Cep: 20.210-902

Horário de atendimento:
segunda a Sexta,
de 8h às 17h.

SBAC
Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

Editor-chefe/*Editor-in-Chief*
Paulo Murillo Neufeld (RJ)

Editores Eméritos/*Honorary Editors*
Mateus Mandu de Souza (RJ)

Editores Associados/*Associate Editors*
Mauren Isfer Anghebem Oliveira (PR)
Paulo Jaconi Saraiva (RS)

RBAC
Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Publicação oficial da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC
Official Publication of Brazilian Society of Clinical Analyses

Volume 49 - Nº 4 - 2017
Edição online - ISSN 2448-3877

Produção Editorial/*Publisher*
Trasso Comunicação Ltda
www.trasso.com.br

SBAC
Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

DIRETORIA EXECUTIVA/*EXECUTIVE BOARD*

Luiz Fernando Barcelos (RS)
Presidente/*President*

Maria Elizabeth Menezes (SC)
Vice-Presidente/*Vice-President*

Lenira da Silva Costa (RN)
Secretário-Geral/*General Secretary*

Mauren Isfer Anghebem (PR)
Secretário/*Secretary*

Valpassos Pacifici Guimarães (RJ)
Tesoureiro/*Treasurer*

Marcos Kneip Fleury (RJ)
Tesoureiro Adjunto/*Assistent Treasurer*

Conselho Fiscal/*Fiscal Board*
Titulares/Holders
Vanderlei Eustáquio Machado (MG)
Alverne Passos Barbosa (GO)
Jurandi David da Silva (PE)

Suplentes/*Alternates*
Nilson Lima Lopes (BA)
Tereza Neuma de Souza Brito (RN)
Paulo Roberto Hatschbach (PR)

Endereço para correspondência/*Editorial Office*
Rua Vicente Licínio, 99 - Tijuca
Rio de Janeiro, RJ - Brasil
20270-902 – Fone: 21 2187-0800 – Fax: 21 2187-0805 E-mail: rbac@sbac.org.br

Afiliações/*Affiliations*

ISQua · IFCC · Clinical and Laboratory Standards Institute · Confederation Latinoamericana de Bioquímica Clínica · Asociación Mercosur de Normalización · ONA · ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas

Comitê Editorial/*Editorial Board*

Bioquímica Clínica/*Clinical Biochemistry*
Álvaro Largura (PR), Marcelo Quintão Mendes (MG), Geraldo Picheth (PR), Marileia Scartezini (PR), Aricio Treitinger (SC), Paolo Mocarelli (ITA), Dulcineia Saes Parra Abdalla (SP), Ary Henrique Filho (GO), Daniel Mazziota (AR), Antenor Henrique Pinto Pedrazzi (SP), Jane Maciel Almeida Baptista (MG), Marinez Oliveira Sousa (MG), José Edson P. da Silva (RS), Rafael Noal Maresco (RS)

Citologia Clínica/*Clinical Citology*
Rita Maria Amparo Bacelar Palhano (MA), Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ), Carlos Eduardo de Queiroz Lima (PE), Rita Gorete Amaral (GO), Alexandre Sherlley Casimiro Onofre (SE), Silvia Helena Rabelo Guimarães (GO)

Controle de Qualidade/*Quality Control*
José Abol Corrêa (RJ), Luís Fernando Barcelos (RS), Mateus Mandu de Souza (RJ), Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), Gabriel de Souza Lima Oliveira (SP)

Endocrinologia/*Endocrinology*
Carlos Alberto Camargo (SP), Ana Maria Menezes (SP)

Toxicologia/*Toxicology*
Regina Helena Queiroz (SP), Maria da Graça Almeida (RN)

Microbiologia Clínica/*Clinical Microbiology*
Antônio Márcio Lopes (MG), Raimundo Diogo Machado (RJ), Estevão José Colnago (RJ), Amauri Braga Simonetti (RS), Cássia Maria Zoccoli (SC), Carmen Paz Oplusti (SP), Raissa Mayer R. Catão (PB)

Imunologia Clínica/*Clinical Immunology*
Mateus Mandu de Souza (RJ), Paulo Jaconi Saraiva (RS), Antônio Walter Ferreira (SP), Adelaide José Vaz (SP), Silvia Fernandes R. da Silva (CE), Manuela Berto Pucca (SP)

Parasitologia Clínica/*Clinical Parasitology*
Antônio Pedro Soares (MG), Geraldo Atilio de Carli (RS), Jerolino Lopes Aquino (MT), Alverne Passos Barbosa (GO), Mauren Isfer Anghebem Oliveira (PR)

Micologia Clínica/*Clinical Micology*
Paulo Murillo Neufeld (RJ), Maria José Gianini (SP), Regina Célia Candido (SP), Rosane Rhan (MT)

Biologia Molecular/*Molecular Biology*
Mario Hiroyuki Hirata (SP), Rosário Dominguez Crespo Hirata (SP), Marcelo Ávilla Mascarenhas (RS), Kelly Melo (SP), Maria Elizabeth Menezes (SC)

Hematologia Clínica/*Clinical Hematology*
Jorge Fernando Teixeira Soares (RJ), Marcos Kneip Fleury (RJ), Celso Spada (SC), Paulo César Naoum (SP), Julio Cezar Merlin (PR), Paulo Henrique da Silva (PR), Robson Ferreira Ferraz Santos (RJ), José Edson Paz da Silva (RS)

Entidades mantidas pela SBAC
Entities maintained by the SBAC

PNCQ – Programa Nacional de Controle de Qualidade/*National Program of Quality Control*
Coordenador/*Coordinator:* Francisco Edison Pacifici Guimarães (RJ)

SNA / DICQ – Sistema Nacional de Acreditação/ *National System of Acreditation*
Coordenador/*Coordinator:* André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ)

CEPAC – Centro de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas
Post Graduation Center
Coordenadora/*Coordinator:* Maria Elizabeth Menezes (SC)

CB-36 – ABNT
Superintendente/*Superintendent:* Humberto Marques Tiburcio (MG)

CSM-20
Coordenador Técnico/*Technical Coordinator*
Luiz Fernando Barcelos (RS)

Comissões Institucionais/
Institutional Comissions

Coordenador Geral/*General Coordinator*
Jerolino Lopes Aquino (MT)

Comissão de Congressos/*Congress Comission*
Coordenador Geral de Congressos/
General Congress Coordinator: Irineu K. Grinberg (RS)
Assessoria Científica/*Scientific Advice:*
Jerolino Lopes Aquino (MT); Luiz Fernando Barcelos (RS), Marcos Kneip Fleury (RJ)

Normas e Habilitação/*Norms and Qualification*
Coordenação/*Coordination:*
Celso Rubens Loques Mendonça (RJ)
Membros/*Members:* Elvira Maria Loureiro Colnago (RJ), Mateus Mandu de Souza (RJ), Estevão José Colnago (RJ), Luiz Fernando Barcelos (RS)

Ensino/*Education*
Paulo Murillo Neufeld (RJ), Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), Marcos Kneip Fleury (RJ), Mateus Mandu de Souza (RJ)

Ética/Ethics
Henrique Tommasi Netto (ES), Francisco Einstein do Nascimento (CE), Maria da Conceição L. Oliveira (SE)

Volume 49/*Volume 49*

RBAC
Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Número 4/*Number 4*

Sumário/*Contents*

CARTA DO PRESIDENTE/*LETTER FROM THE PRESIDENTE*

319 SBAC de 1967 a 2017, rumo ao futuro
Barcelos LF

EDITORIAL/*EDITORIAL*

321 *Telemicrobiologia: O telediagnóstico do futuro*
Telemicrobiology: The telediagnosis of the future
Neufeld PM

ARTIGO DE REVISÃO/*REVIEW*

323 Toxoplasmose gestacional: uma revisão
Gestational toxoplasmosis: a review
Walcher DL, Comparsi B, Pedroso D

328 Utilização da contagem automatizada de granulócitos imaturos para diagnóstico da sepse
Use of automated immature granulocyte counting for the sepsis diagnosis
Pereira VSC

333 Tratamento da fase crônica da Doença de Chagas: revisão sistemática
Treatment of chronic phase of Chagas Disease: systematic review
Mendes LL, Silva MS, Martins ALO

339 Técnicas de recomposição de componentes do sangue para fins terapêuticos
Techniques for restoring blood components for therapeutic purposes
Rocha KWO

344 Imunoterapia específica para o tratamento de alergias respiratórias: uma revisão sobre seu uso
Specific immunotherapy for the respiratory allergy treatment: a review of its use
Rosa TJ

351 Síndrome de hiperinfecção e/ou disseminação por Strongyloides stercoralis em pacientes imunodeprimidos
Hyperinfection syndrome and/or dissemination by Strongyloides stercoralis *in immunosuppressed patients*
Santana ATT, Loureiro MB

ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO/*UPDATE*

359 Citocinas de resposta th1 e th2 e *diabetes mellitus* tipo 1
Th1 and Th2 response cytokins in type 1 diabetes mellitus
Nunes R, Cordova CMM

Volume 49/*Volume 49*

RBAC
Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Número 4/*Number 4*

Sumário/*Contents*

ARTIGO ORIGINAL/*ORIGINAL ARTICLE*

365 Avaliação da presença de anemia e de deficiência de ferritina em crianças
Evaluation of the presence of anemia and ferritin deficiency in children
Faria ACF, Pereira LGR, Silva PA, Heitor RAS, Oliveira Júnior WV, Domingueti CP

371 Susceptibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de colchões hospitalares
Antimicrobial susceptibility of bacteria on hospital mattresses
Mahl S, Rossi EM

376 *Staphylococcus lugdunensis* em hemoculturas: perfil de sensibilidade aos antimicrobianos
Staphylococcus lugdunensis *in blood cultures: susceptibility profile of antimicrobials*
Araújo DG, Oliveira MEF, Oliveira SR

381 Perfil de sensibilidade antimicrobiana em urinoculturas de um hospital universitário do estado do Ceará no período de janeiro a junho de 2015
Antimicrobial sensitivity profile of urine cultures of a university hospital of the Ceará State in the period of January to June 2015
Elias DBD, Ribeiro ACS

390 Qualidade microbiológica da couve-manteiga (*Brassica oleracea L.*) minimamente processada comercializada em supermercado na cidade de Marília-SP
*Microbiological quality of fresh-cut kale (*Brassica oleracea L.*) marketed in a supermarket in the city of Marília-SP*
Imamura KB, Ferreira TC, Giannoni JA, Dorta C

COMUNICAÇÃO BREVE/*SHORT COMMUNICATION*

396 Estudo epidemiológico das infecções fúngicas superficiais em Itajaí, Santa Catarina
Epidemiological study of surface fungal infections in Itajaí, Santa Catarina
Fajardo AD, Silva RR, Costa APM, Rossetto AL, Cruz RCB

401 Diagnóstico parasitológico em amostras fecais no laboratório de análises clínicas: comparação de técnicas e custo de implantação
Parasitological diagnosis in fecal samples in the laboratory of clinical analyses: comparison of techniques and cost of implantation
Azevedo EP, Almeida EM, Matos JS, Ramos AR, Siqueira MP, Fonseca ABM, Barbosa AS, Bastos OMP, Uchôa CMA

408 **INSTRUÇÕES AOS AUTORES / *INSTRUCTIONS FOR AUTHORS***



Luiz Fernando Barcelos

SBAC de 1967 a 2017, rumo ao futuro

Estamos encerrando mais um ano, o ano do cinquentenário da SBAC. No dia 28 de novembro recente, há exatamente 50 anos depois da fundação, realizamos um jantar de confraternização com a participação de autoridades, parceiros, fornecedores e funcionários. Nesta ocasião foram homenageados, merecidamente, os ex-presidentes da SBAC e os funcionários com mais de 20 anos trabalhando na Sociedade. O que a SBAC é hoje, uma pujante sociedade científica, deve-se às inúmeras pessoas que souberam com carinho, competência, coragem e dedicação, construir um ambiente científico respeitado e dinâmico.

Temos uma bela história para contar: farmacêuticos idealistas dedicados às análises clínicas buscavam um espaço para se reunirem e desenvolverem cientificamente o setor; não o encontrando, resolveram criá-lo fundando a Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - SBAC, com o objetivo precípuo de desenvolver as análises clínicas em suas diversas especialidades e também apoiar os laboratórios clínicos frente às questões de natureza política e econômica.

Desde então, ao longo destes 50 anos, a atividade científica, a incessante busca pela qualidade e o trabalho árduo na defesa dos laboratórios tornaram a Sociedade de cada vez mais forte, hoje com 3.600 associados.

A importância nacional e internacional é marcante, a SBAC é uma das entidades fundadoras da Confederação Latino-americana de Química Clínica – Colabiocli, Membro da Federação Internacional de Química Clínica – IFCC, Fundadora da Organização Nacional de Acreditação – ONA, Mantenedora do Comitê Brasileiro de Análises Clínicas – ABNT/CB-36 e várias outras afiliações.

A SBAC, ao longo da sua existência, marcou a sua presença com inúmeras realizações que constituem um legado digno de registro:

– 44 congressos brasileiros de análises clínicas, realizados em vários estados;

– 80 concursos para a concessão do Título de Especialista em Análises Clínicas – TEAC, também realizados em vários estados;

– 49 edições da Revista Brasileira de Análises Clínicas – RBAC, hoje em meio eletrônico e disponível para toda a comunidade;

– 12 cursos de pós-graduação em análises clínicas e gestão;

– 350 laboratórios acreditados pelo Sistema Nacional de Acreditação – SNA, que é uma unidade mantida pela SBAC;

– 5.500 laboratórios participantes do Programa Nacional de Controle de Qualidade – PNCQ, também unidade mantida pela SBAC;

– Mais de 20.000 profissionais participantes de cursos de atualização, sem contar os cursos realizados em congressos;

Estamos conscientes que fizemos muito em prol das análises clínicas e dos analistas clínicos, mas entendemos que podemos e devemos fazer muito mais.

No ano de 2017, implantamos mudanças estruturais com o objetivo de preparar a Sociedade para enfrentar os desafios do mundo atual, capacitada para utilizar as ferramentas atuais para a difusão do conhecimento:

– Reestruturação financeira e regularização dos impostos;

– Site modernizado com atualização diária;

– Acessos exclusivo aos sócios, no site;

– Nova plataforma de vídeo aulas administrada pela SBAC;

– Criação de novos serviços de consultoria nas áreas contábil e gestão;

– Canal do expositor para a promoção dos seus produtos que estarão no estande do CBAC;

Para o ano de 2018 os projetos são muitos e ousados e serão possíveis em decorrência das mudanças que foram realizadas neste ano. Vamos relatar as principais ações previstas:

– Vídeo aulas exclusivas e gratuitas para os associados;

– Curso de Gestão e Qualidade em Laboratórios Clínicos através de EAD, em parceria com o CFF, com acesso exclusivo e gratuito para os associados farmacêuticos;

– Implantação da categoria de associado empresarial para os laboratórios com vantagens em compras e consultorias gratuitas;

– Implantação de novas consultorias;

– Parceria na regulação do mercado de compras e apoio;

– Implantação de um inovador processo de comunicação digital para os laboratórios;

– Desenvolvimento do aplicativo "SBAC em suas mãos";

As propostas e mudanças acima colocarão com certeza a SBAC em outro patamar de modernidade, eficiência e praticidade.

Esperamos também que os nossos gestores políticos e administrativos lembrem que a saúde é um direito de todos e dever do estado, mas que tem custo e, portanto, deve ser contemplada com os recursos financeiros necessários, mas principalmente com uma gestão eficiente.

O setor está sofrendo uma situação de penúria financeira devido à não atualização dos valores de remuneração há 20 anos. Não se conhece nenhum outro setor de atividade que enfrente quadro tão dramático. Mas vamos continuar trabalhando para cumprir a nossa missão. Estamos fazendo a nossa parte e esperamos que os responsáveis pelas políticas de saúde façam a sua.

Estamos no final de mais um ano, e desejamos a todos os nossos associados e cidadãos Boas Festas com muita paz e a esperança de que em 2018 o nosso país reencontre o rumo do desenvolvimento, alicerçado no trabalho, honestidade e decência, com investimentos imediatos em educação e saúde, única forma de garantir que este Brasil possa ser um país do futuro.

Dr. Luiz Fernando Barcelos

Presidente da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC)

Telemicrobiologia: O telediagnóstico do futuro

Telemicrobiology: The telediagnosis of the future

A telemedicina ou o telediagnóstico foi originalmente concebida para permitir exames clínicos remotos de pacientes, usando a tecnologia de televisão ou imagem. A partir da segunda metade do século XX, os testes laboratoriais passaram a ser um componente essencial à avaliação da condição clínica e clínico-cirúrgica dos indivíduos e, portanto, aos poucos, foram sendo também incorporados ao telediagnóstico.[1] Na realidade, as provas de laboratório que vêm se beneficiando dessa tecnologia são aquelas que envolvem diferentes tipos de imagens macro e/ou microscópicas, já que permitem, sem maiores dificuldades, sua captura, interpretação e comunicação digital.[1,2]

Em todo o mundo, nas últimas duas décadas, tem havido uma utilização crescente da tecnologia digital para o estabelecimento da etiologia de diversas patologias, o que tem estimulado o surgimento de novas práticas de telemedicina como a telerradiologia e a telepatologia, incluindo, entre outras, a telemicrobiologia.[1,3,4] Particularmente na microbiologia clínica, essas práticas têm levado a uma redução de custos e a novas oportunidades de controle de qualidade, ensaios de proficiência e educação continuada.[2,5] A introdução do suporte digital e de informática no laboratório de microbiologia tem determinado também um aumento da eficiência e efetividade no diagnóstico das doenças infecciosas, principalmente em instituições onde há limitados recursos técnico-científicos para o desenvolvimento da especialidade.[6] No Brasil, por exemplo, o Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ) da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC) disponibiliza aos laboratórios clínicos participantes um conjunto de programas de telediagnóstico que inclui a telebacteriologia, teleparasitologia e telemicologia.

O laboratório de microbiologia clínica tem sob sua reponsabilidade a caracterização do agente causal de um grande número de infecções e seu objetivo é subsidiar o estabelecimento da terapêutica mais adequada pelos médicos que assistem aos pacientes.[1,6] No entanto, esse processo tem se tornado extremamente complexo, não somente pelo avanço do conhecimento acerca da biologia dos microrganismos patogênicos, mas também pela alta tecnologia de diagnóstico que vem sendo incorporada. De fato, o laboratório de microbiologia está sendo desafiado a trabalhar mais, a identificar melhor os microrganismos, a reportar intrincados mecanismos de resistência aos antimicrobianos, a operar automação e a consolidar dados produzidos por diferentes metodologias diagnósticas.[6] No entanto, nem todos os laboratórios estão preparados para assumir as demandas do mundo contemporâneo. Assim, num contexto de menor expertise e facilidades econômicas escassas, a telemicrobiologia pode ser mais um instrumento de melhoria técnica e da qualidade.[1,3,4]

Em decorrência do trabalho da microbiologia ser executado tipicamente através da visualização de imagens, a telemicrobiologia é uma prática que se adequa à rotina dos procedimentos microbiológicos, não diferindo ou alterando a forma como os profissionais desempenham suas atividades.[3,5] Nesse sentido, a análise microbiológica remota de imagens estáticas, dinâmicas ou híbridas irá necessitar dos mesmos conhecimentos laboratoriais solicitados para a microbiologia convencional. A semelhança com a microbiologia convencional tem contribuído de maneira importante com a crescente aceitação dessa nova metodologia pelo laboratório clínico.[3,4,5]

DOI: 10.21877/2448-3877.201800667

A telemicrobiologia pode ser procedida de várias formas, a mais comum é a telemicroscopia, que inclui fotomicrografias de lâminas contendo preparações microscópicas. Essa prática é a mais elementar, todavia, a mais difundida, tendo em vista ser de baixo custo e necessitar de menor recurso tecnológico, pois requer apenas um microscópio que tenha acoplado uma câmara digital.[3,4] Atualmente, inclusive, câmeras de celulares têm sido empregadas para a obtenção de imagens diretamente da ocular de microscópios.[3] Imagens de muito melhor qualidade e resolução podem ser obtidas de lâminas totais. Para tanto, infraestrutura e aparelhos sofisticados são necessários para o escaneamento de imagens estáticas ou dinâmicas (eixo Z) dessas lâminas totais e vídeos gravados ou em tempo real.[1,3,6] As imagens assim obtidas podem ser enviadas por e-mail, celulares, videoconferências ou por sistemas de informação e comunicação de dados com finalidades consultivas ou diagnósticas intra e interinstituições.[6,7]

Além de seu característico uso na telemicroscopia, a telemicrobiologia pode ser também empregada para análises remotas de imagens digitais de culturas de microrganismos.[7] A leitura digital de placas requer um sistema sofisticado que possa simultaneamente incubar as placas de cultura e movê-las, em momentos programados, para a estação de captura de imagem. As imagens obtidas de culturas e testes de susceptibilidade a antimicrobianos são analisadas e interpretadas por microbiologistas em monitores de computadores, utilizando *softwares* específicos.[3,6,7] A análise remota de culturas evita atrasos, procedimentos manuais repetitivos e exposições a temperaturas de incubação subótimas e documenta de forma permanente as imagens das leituras.[7] A integração entre a telemicroscopia e a imagem digital de colônias e testes de sensibilidade permite maior efetividade da análise microbiológica remota. Da mesma forma, a possibilidade de se analisarem múltiplos espécimens obtidos de um mesmo paciente facilita o estabelecimento de estratégias terapêuticas centradas no próprio paciente.[3,6,7]

Apesar de ainda não disponível de forma ampla ao laboratório de microbiologia clínica, a telemicrobiologia é um instrumento da modernidade que invariavelmente será incorporado à rotina da análise microbiológica dos processos infeciosos, trazendo eficiência na definição das etiologias e dos padrões de susceptibilidade, ao fluxo e processo de trabalho, à avaliação e comunicação de dados, à geração de resultados e à emissão de laudos.[3,7]

REFERÊNCIAS

1. Suhanic W, Crandall I, Pennefather P. An informatics model for guiding assembly of telemicrobiology workstations for malaria collaborative diagnostics using commodity products and open-source software. Malar J. 2009;8:164.
2. Ribeiro OD, Hilleshein KD, Sartori B. Telepatologia. Anais de Medicina. Resumos. 2014;1(1). Disponível em https://editora.unoesc.edu.br/index.php/anaisdemedicina/article/view/4659. Acesso em 12 jan 2018.
3. Rhoads DD, Mathison BA, Bishop HS, da Silva AJ, Pantanowitz L. Review of Telemicrobiology. Arch Pathol Lab Med. 2016;140(4):362-70.
4. Rhoads DD, Habib-Bein NF, Hariri RS, Hartman DJ, Monaco SE, Lesniak A, et al. Comparison of the diagnostic utility of digital pathology systems for telemicrobiology. J Pathol Inform. 2016;7:10.
5. Urtiga KS, Louzada LAC, Costa CLB. Telemedicina: uma visão geral do estado da arte. São Paulo-SP: Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina (UNIFESP/EPM). 2004. Disponível em: http://telemedicina.unifesp.br/pub/SBIS../CBIS2004/trabalhos/arquivos/652.pdf. Acesso em 12 jan 2018.
6. Rhoads DD, Sintchenko V, Rauch CA, Pantanowitz L. Clinical microbiology informatics. Clin Microbiol Rev. 2014;27(4):1025-47.
7. Rhoads DD, Novak SM, Pantanowitz L. A review of the current state of digital plate reading of cultures in clinical microbiology. J Pathol Inform. 2015;6:23.

Paulo Murillo Neufeld, PhD
Editor-Chefe da Revista Brasileira de Análises Clínicas

Toxoplasmose gestacional: uma revisão

Gestational toxoplasmosis: a review

Débora Liliane Walcher[1]
Bruna Comparsi[2]
Débora Pedroso[3]

Resumo
A toxoplasmose é uma das infecções parasitárias mais comuns em humanos e possui ampla distribuição geográfica. Segundo estudos realizados no Brasil, a soroprevalência de toxoplasmose na população adulta em geral varia aproximadamente entre 40% e 80%, sendo que, no Rio Grande do Sul, cerca de 82% da população adulta apresenta sorologia positiva para o *Toxoplasma gondii*. A soroprevalência varia conforme as regiões de estudo, sobretudo quando relacionadas a condições sanitárias e índices socioeconômicos. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão bibliográfica sobre a toxoplasmose adquirida durante a gestação. A transmissão vertical apresenta relevância pelos danos causados ao neonato, como doença severa ou discreta. Entretanto, a toxoplasmose congênita ou suas sequelas podem ser evitadas. Definir os fatores de risco em cada população é de fundamental importância para determinar as estratégias de promoção à saúde. Estratégias essas que devem ser baseadas no conhecimento dos fatores que afetam o comportamento das gestantes. Oportunizar palestras de prevenção por meio de medidas profiláticas e acompanhamento pré-natal, seguidas de monitoramento trimestral, certamente ajudarão a reduzir os danos causados pela infecção congênita, evitando sequelas ao neonato.

Palavras-chave
Toxoplasmose; Gravidez; Prevenção

INTRODUÇÃO

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório pertencente ao filo Apicomplexa e família *Sarcocystidae*, agente etiológico da toxoplasmose, zoonose altamente disseminada e de ampla distribuição geográfica, sendo uma das infecções parasitárias mais comuns em humanos.(1) O *Toxoplasma gondii* possui um ciclo de vida complexo com dois hospedeiros, os felídeos, como hospedeiros definitivos, e o homem, mamíferos e aves, como hospedeiros intermediários.(2)

No intestino delgado dos felídeos ocorre a reprodução sexuada do parasito, com a produção de oocistos não esporulados, devido à ingestão de cistos teciduais, através de carne crua ou mal passada de hospedeiros intermediários.(3) Esses oocistos, ao serem eliminados por meio das fezes dos felídeos, esporulam no ambiente e, em poucos dias, mantêm-se viáveis por até 12 ou 18 meses em ambiente úmido e sombreado, podendo espalhar-se pelo ambiente e contaminar a água, frutas, vegetais, herbívoros(4) e, consequentemente, serem ingeridos pelo homem e por outros hospedeiros intermediários.(5) O *T. gondii* apresenta diferentes formas de transmissão, sendo a principal pela ingestão do oocisto (esporozoítos) esporulado. Porém, outras vias de transmissão têm colaborado para a prevalência desta zoonose, como a ingestão de cistos teciduais (bradizoítos) encontrados na musculatura esquelética, através do consumo de carne crua ou mal cozida de hospedeiros paratênicos, geralmente durante a fase crônica da infecção, uma vez que os cistos (bradizoítos) podem permanecer viáveis nos tecidos por anos. Outras maneiras de transmissão é através dos taquizoítos, forma encontrada durante a fase aguda da infecção, por meio de transfusões sanguíneas, contato com secreções e excreções, ou, ainda, por via transplacentária em gestantes primoinfectadas.(6)

No organismo, o *T. gondii* sobrevive em líquidos orgânicos como saliva, leite, esperma e em outras secreções e excreções. A especificidade para células e hospedeiro sugere que o *Toxoplasma gondii* apresente receptores conservados que favorecem o sucesso do seu parasitismo. No entanto, muitas pesquisas se preocupam apenas com a prevalência da toxoplasmose em humanos e animais, sem

[1]*Mestranda. Universidade Federal de Pelotas.*
[2]*Doutoranda. Universidade Federal de Santa Maria/Professora. Instituto Cenecista de Ensino Superior de Santo Ângelo – Santo Ângelo-RS, Brasil.*
[3]*Doutoranda. Universidade Federal de Pelotas – Instituto Cenecista de Ensino Superior de Santo Ângelo. Professora titular.*

Instituição: Instituto Cenecista de Ensino Superior de Santo Ângelo - IESA – Santo Ângelo-RS, Brasil.

Artigo recebido em 25/04/2014
Artigo aprovado em 01/02/2016
DOI: 10.21877/2448-3877.201600273

ressaltar a fase do parasito (oocistos), o qual se encontra no meio ambiente, que é tão importante quanto as formas presentes nos hospedeiros intermediários ou definitivos, pois milhares de oocistos podem ser espalhados no ambiente por um único animal, e, em condições climáticas ideais, esporulam e, consequentemente, propagam a infecção.[7]

Segundo estudos realizados no Brasil, a soroprevalência de toxoplasmose na população adulta varia aproximadamente entre 40% e 80%.[8] Nos estudos de Maia et al., realizado com 1.532 pessoas da região do Pontal do Triângulo Mineiro, Minas Gerais, a taxa de prevalência foi de 36%. Esta soroprevalência varia conforme as regiões estudadas, sobretudo quando relacionadas a condições sanitárias, índices socioeconômicos, e, ainda, de acordo com a idade e a população estudada.[9] Assim, nos últimos anos, a toxoplasmose passou a ganhar maior atenção e importância médica, pois as investigações epidemiológicas demonstram que esta zoonoze é realmente um problema de Saúde Pública.[10]

TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

Toxoplasmose adquirida durante a gestação, por constituir uma das formas de transmissão do parasita (transmissão vertical), apresenta especial relevância pelos danos causados ao desenvolvimento do neonato.[2] O risco materno, ao se adquirir a toxoplasmose durante o período gestacional, está relacionado à prevalência na comunidade, à parasitemia adquirida, ao número de mulheres susceptíveis (não imunizadas por infecção prévia) e à resposta imunológica materna ao *T. gondii* no período gestacional em que a mãe se encontra.[11]

A transmissão do neonato ocorre pelos taquizoítas que cruzam a placenta a partir da circulação materna durante a primoinfecção. No primeiro trimestre da gestação, essa infecção pode acarretar lesões mais graves. No entanto, a infecção materna que ocorre no último trimestre, embora com maior frequência, tem menor gravidade; portanto, no decorrer da gestação há um aumento no risco de transmissão vertical e diminuição da gravidade do acometimento fetal.[9] Mulheres que apresentam soropositividade antes da gestação geralmente não a transmitem para o neonato, porém, cistos teciduais em quiescência de infecção passada (antes da gestação) podem reiniciar o ciclo de vida do parasita em gestantes imunodeprimidas e, em casos raros, em gestantes imunocompetentes.[12] Entretanto, na literatura, há relatos de casos de infecção congênita em crianças nascidas de mulheres que se infectaram com *T. gondii* antes da concepção, apresentando imunodeficiência ou sistema imune normal.[2] A maioria dos recém-nascidos infectados não apresenta sintomas, outros desenvolverão sequelas após o nascimento, como coriorretinite, retardo mental e moderada perda da audição.[13] Em torno de 15% dos recém-nascidos infectados, as lesões oculares são o único sinal clínico, sendo a retinocoroidite a principal lesão observada, podendo estar acompanhada de outras alterações oculares, como iridociclite, catarata, glaucoma, estrabismo, nistagmo e descolamento da retina.[14]

Ainda, nos casos mais graves de infecção congênita, o recém-nascido pode apresentar modificação do volume craniano, calcificações intracerebrais e/ou convulsões. No soro do recém-nascido, a presença de títulos elevados de anticorpos IgG, que aumentam ou permanecem positivos em período de até 18 meses, é indicativo de toxoplasmose congênita, já que os que decrescem e tendem a se tornar negativos representam os anticorpos maternos de transferência passiva.[15]

A toxoplasmose congênita, assim como suas sequelas, podem ser evitadas por meio de prevenção primária, com informações sobre as fontes de infecções, triagem sorológica pré-natal (pela identificação da toxoplasmose gestacional o mais precocemente possível, seguida de tratamento antimicrobiano, a fim de prevenir ou limitar a transmissão transplacentária, diagnóstico e tratamento fetal), estratégias estas que podem ser alternativas em regiões com prevalência baixa de infecção toxoplásmica, ou indispensáveis em regiões com elevada prevalência.[16]

DIAGNÓSTICO GESTACIONAL

O diagnóstico de infecção pelo *T. gondii* por métodos imunoenzimáticos padronizados e automatizados é de suma importância, pois permite a inclusão de gestantes em fase de infecção recente na terapia protocolar, visando minimizar complicações clínicas clássicas decorrentes da passagem transplacentária do parasita ao feto.[1] E apesar da grande variedade de métodos utilizados para o diagnóstico da toxoplasmose (parasitológicos, histopatológicos, isolamento *in vivo* e *in vitro* e PCR), o método inicial de escolha, observado na maioria dos laboratórios clínicos públicos e mesmo particulares, para a definição de infecção, fase clínica e inclusão em tratamento protocolar a fim de minimizar riscos associados, é por sorologia utilizando imunoensaios.[7] Esses métodos sorológicos são frequentemente utilizados para se diagnosticar a doença, pois permitem detectar a presença de imunoglobulinas anti-*T.gondii* (IgG, IgM, IgA) que aparecem após a infecção.[17]

Na fase aguda da toxoplasmose, é produzida primeiramente a imunoglobulina M (IgM), seguida da produção de imunoglobulina G (IgG). No teste avidez de anticorpos IgG, eles aparecem mais tarde, indicando que o paciente já foi exposto ao parasita.[18] Na infecção aguda, anticorpos IgG ligam-se fracamente ao antígeno (baixa avidez). Já na infecção crônica (> 4 meses) tem-se elevada avidez, porém não é possível diferenciar entre uma infecção recente ou uma

infecção que ocorreu no passado.[19] A presença do anticorpo IgM confirma uma infecção aguda, e o seu grau de elevação pode ser utilizado para diferenciar quando ocorreu a infecção pelo parasita.[20] Imunoglobulinas como a IgA e a IgE, quando detectadas, podem estar relacionadas a infecção aguda da toxoplamose para a avaliação de infecção recente.[21]

Há evidências de que a soropositividade para toxoplasmose (presença de anticorpos IgG) aumenta em relação à idade das gestantes, e a presença destes confere fator protetor, afastando o risco de transmissão vertical.[2] Nas gestantes, sob suspeita de infecção, anticorpos IgG específicos podem atingir uma titulação máxima cerca de dois meses a partir da infecção, declinando cerca de cinco a seis meses após, contudo mantendo-se detectáveis pelo resto da vida.[7]

Para o diagnóstico definitivo de infecção aguda na gestação, seriam necessários testes seriados para identificar soroconversão materna, quando previamente diagnosticada como susceptível à infecção ou, ainda, mediante a utilização de testes confirmatórios,[22] sendo que a sensibilidade é mais elevada quando realizada entre 17 e 21 semanas de gestação.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa do material bibliográfico foi realizada nas bases de dados Lilacs-Bireme, SciELO, PubMed e Medline. Para seleção de artigos utilizaram-se as palavras-chave: toxoplasmose, gestação e prevenção. A busca se restringiu a artigos publicados em Português e Inglês no período de janeiro de 2003 a dezembro de 2012. A consulta às bases de dados foi realizada em dezembro de 2012.

Posteriormente, os materiais foram lidos e analisados para serem selecionados a fim de se identificarem os trabalhos que abordavam o tema objeto da revisão, mesmo que de forma secundária, e ainda respeitavam os seguintes critérios de inclusão: 1) *Toxoplasma gondii*; 2) gestantes; e 3) transmissão congênita. Foram excluídos estudos publicados sob a forma de editoriais, entrevistas e notas clínicas. Artigos que não atenderam a algum dos critérios propostos foram excluídos das análises posteriores. Foram também pesquisados livros, informes técnicos, teses, dissertações e consensos que versassem sobre o assunto, sendo que esses passaram por seleção semelhante à descrita anteriormente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Definir a prevalência de toxoplasmose gestacional é fundamental para que o Sistema de Saúde de cada região possa definir medidas para reduzir a incidência e minimizar as sequelas nos recém-nascidos. Em um estudo epidemiológico realizado na cidade de Porto Alegre, envolvendo 1.261 gestantes do Hospital Nossa Senhora da Conceição, identificou a prevalência de soropositividade para toxoplasmose de 59,8%.[22]

Em Passo Fundo-RS foram encontrados índices de oito casos de toxoplasmose congênita para cada 10 mil nascidos saudáveis. Neste mesmo estudo, a distribuição quanto ao *status* socioeconômico mostrou que 84,5% das gestantes situavam-se nas classes C, D e E.[23] Em relação a estes achados, acredita-se que a população com maior escolaridade possua melhores hábitos higiênicos, reduzindo assim a possibilidade de contaminação, uma vez que, segundo Pôrto,[24] o risco de soroconversão e de infecção congênita é variável de região para região devido a fatores complexos e variáveis, como o nível socioeconômico.

De acordo com Leão et al.,[25] no primeiro trimestre da gestação, a transmissão vertical é menor em relação ao terceiro trimestre, sendo que em 59% a 65% dos casos a criança pode nascer normal ou com sequelas. No entanto, a infecção recente, durante a gestação, não necessariamente irá resultar em infecção fetal, pois o risco de transmissão pode variar de acordo com a idade gestacional em que a gestante se infectou. Souza-Júnior et al,[26] em seu estudo afirmam que 33% a 100% dos casos de toxoplasmose congênita apresentaram sequelas ao feto.

No Brasil, estudos de prevalência de gestantes soropositivas para IgG antitoxoplasma apontam Rio Grande do Sul com 74,5%[15] e Mato Grosso do Sul com 92%.[2] Porém, há de se considerar que os hábitos da população do Rio Grande do Sul referentes à culinária, e o fato de que nas áreas rurais existe predomínio de estilo de vida baseado na agricultura familiar de subsistência, é de se esperar que a prevalência de soropositividade para infecções pelo toxoplasma seja elevada.[22] Qualquer título de anticorpos IgM traduz infecção recente independentemente da presença ou não de títulos de anticorpos IgG.[7] Contudo, a presença de anticorpos IgM pode não significar necessariamente uma infecção ativa, mas sim uma marca do contágio recente, e, também, pela característica desta classe de anticorpos permanecer em circulação por cerca de 18 meses.[7] Alguns estudos mostraram que a utilização dos dois exames (IgM e avidez de IgG), juntamente com a análise da idade gestacional, mostrou resultados benéficos para determinar o risco de transmissão vertical durante toda a gestação, sendo um modelo na tomada de decisões, evitando investigação e tratamento desnecessários em alguns casos.[12]

Apesar de possuirmos uma literatura ampla sobre a toxoplasmose na gestação, a estratégia mais adequada para prevenir essa parasitose em determinada população depende de inúmeros fatores e é difícil de definir.[12] Em muitos estudos, tem-se observado que parte das gestantes não inicia o pré-natal no primeiro trimestre gestacional.[27] Des-

sa forma, surge a importância de investimentos direcionados ao acesso e à qualidade do ensino em nosso meio como forma de promoção da saúde da população.[22]

Os programas de prevenção primária devem ser baseados nas características epidemiológicas e culturais de cada região, bem como determinar o perfil sorológico da mulher em idade reprodutiva. Estas poderiam se tornar medidas terapêuticas para minimizar a transmissão vertical, assim como avaliar os fatores de risco em cada população e determinar estratégias de promoção à saúde que devem ser baseadas no conhecimento dos fatores que afetam o comportamento das gestantes.[25]

As estratégias de prevenção da toxoplasmose adotadas pelos vários sistemas públicos de saúde não são uniformes entre os vários países e nem mesmo dentro de um país.[28] No Brasil, a triagem pré-natal é sugerida como política pública não obrigatória devido à elevada prevalência da toxoplasmose materna (superior a 40%), sendo oferecida gratuitamente em algumas regiões, com experiência isolada e protocolos próprios, mas sem uniformidade nas ações, como nos estados do Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo e Goiás e nas cidades de Porto Alegre, no Rio Grande do Sul, e Curitiba, no Paraná.[16] No Paraná, o programa "Mãe Curitibana", um dos primeiros implantados no Brasil, pela Secretaria Municipal de Saúde de Curitiba, Paraná, garante uma atenção especial à gestante, efetivando seu vínculo à maternidade onde realizará seu parto desde sua primeira consulta no pré-natal.[28]

Diante da gravidade da doença congênita, torna-se fundamental o início do pré-natal no primeiro trimestre da gestação, possibilitando a identificação precoce dos casos agudos de toxoplasmose gestacional.[29] Deste modo, o Ministério da Saúde aprovou a portaria 2.472, de 31 de agosto de 2010, anexo III, a qual estabelece a Lista de Notificação Compulsória em Unidades Sentinelas (LNCS), incluindo a Notificação da toxoplasmose aguda gestacional e congênita, que permitirá avaliar os programas de controle existentes e fornecerá dados para a implantação de um programa em nível nacional.[28]

CONCLUSÃO

A promoção da saúde pública no Brasil é, hoje, sem dúvida, uma das questões mais importantes quando nos referimos às doenças de importância parasitológica. A situação precária de higiene, saneamento básico, entre outros fatores, é que acaba por expor o ser humano a estas doenças. No caso das gestantes, a prevenção por meio de medidas profiláticas e o acompanhamento pré-natal, seguidos de monitoramento trimestral correto, certamente reduziriam os casos de infecção congênita pelo *T. gondii* e, consequentemente, o aparecimento de sequelas para o recém-nascido no futuro.

Portanto, quanto maior for o incentivo em relação a palestras em escolas e, inclusive, comunidades carentes, onde se vê a maior porcentagem em relação à toxoplasmose gestacional, menor será o risco de se adquirir a infecção pelo *T. gondii.*

Abstract

Toxoplasmosis is one of the most common parasitic infections in humans and is widely spread. According to studies carried out in Brazil, the seroprevalence of toxoplasmosis in the adult general population varies between approximately 40 and 80%, and in Rio Grande do Sul, about 82% of the adult population is seropositive for Toxoplasma gondii. *The prevalence varies according to the region of study, especially when related to health conditions and socioeconomic indices. The aim of this study was to review literature on acquired toxoplasmosis during pregnancy. Vertical transmission has relevance for damage to the neonate, such as severe or mild disease. However congenital toxoplasmosis and its consequences can be avoided. Define the risk factors in each population is of fundamental importance to determine strategies for health promotion. These strategies should be based on knowledge of the factors affecting the behavior of pregnant women. Oportunizar lectures prevention through prophylactic measures, and put prenatal followed by quarterly monitoring, will certainly help to reduce the damage caused by congenital infection, preventing sequela e for the newborn.*

Keywords

Toxoplasmosis; Pregnancy; Prevention

REFERÊNCIAS

1. Remington JS, Thulliez P, Montoya JG. Recent Developments for Diagnosis of Toxoplasmosis. J Clin Microbiol. 2004;42(3):941-5.
2. Figueiró-Filho EA, Lopez AHA, Senefonte RA, Júnior VGS, Botelho CA, Figueredo MS, Duarte G. Toxoplasmose aguda: estudo da frequência, taxa de transmissão vertical e relação entre os testes diagnósticos materno-fetais em gestantes em estado da Região Centro-Oeste do Brasil. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. 2005;27 (8):442-9.
3. Kravetz JD, Federman DG. Toxoplasmosis in pregnancy. Am J Med. 2005;118(3):212-6.
4. Rorman E, Zamir CS, Rilkis I, Ben-David H. Congenital toxoplasmosis-prenatal aspects of Toxoplasma gondii infection. Reprod Toxicol. 2006;21(4):458-72.
5. Coelho JMP. Toxoplasmose na Gravidez. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Abril; 2010.
6. Kawazoe U. Toxoplasma gondii. In: Neves D, Melo AL, Genaro O, Linardi PM. Parasitologia Humana. 11a. ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2005.
7. Vaz RS. Diagnóstico sorológico, isolamento e caracterização molecular de toxoplasma gondii em mulheres gestantes atendidas pelo serviço público na cidade de Curitiba. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba-PR; 2006.
8. Francisco FM, Souza SL, Gennari SM, Pinheiro SR, Muradian V, Soares RM. Seroprevalence of toxoplasmosis in a low-income community in the São Paulo municipality, SP, Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo; 2006;48:167-70.
9. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. The Lancet. 2005;363:1965-76.
10. Langoni H. Doenças ocupacionais em avicultura. In: Andreatti Filho RL. Saúde aviária e doenças. São Paulo, 52-60; 2006.
11. Barbosa IR. Estudo Epidemiológico da Toxoplasmose em gestantes atendidas na maternidade escola Januário Cicco, Natal, Rio Grande do Norte. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2008.

12. Reis MM, Tessaro MM, D'Azevedo PA. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes de um hospital público de Porto Alegre. Rev Bras Ginecol Obstet. 2006;28(3):158-64.
13. Fromont EG, Riche B, Rabilloud M. Toxoplasma seroprevalence in a rural population in France: detection of a household effect. BMC Infec Dis. 2009;28(9):76.
14. Diniz EMA. O diagnóstico da toxoplasmose na gestante e no recém-nascido. Pediatria. São Paulo, 2006;28(4):222-5.
15. Spalding SM, Amendoeira MRR, Ribeiro LC, Silveira C, Garcia AP, Camillo-Coura L. Estudo prospectivo de gestantes e seus bebês com risco de transmissão de toxoplasmose congênita em município do Rio Grande do Sul. Rev Soc Bras Med Trop. 2003;36(4): 483-91.
16. Lago EG, Neto EC, Melamed J, Rucks AP, Presotto C, Coelho JC, et al. Congenital toxoplasmosis: late pregnancy infections detected by neonatal screening and maternal serological testing at delivery. Paediatr Perinat Epidemiol. 2007;21:525-31.
17. Béla SR, Oliveira Silva DA, Cunha-Júnior JP, Pirovani CP, Chaves-Borges FA, Reis de Carvalho F, et al. Use of SAG2A recombinant Toxoplasma gondii surface antigen as a diagnostic marker for human acute toxoplasmosis: analysis of titers and avidity of IgG and IgG1 antibodies. Diagn Microbiol Infect Dis. 2008;62(3):245-54.
18. Amendoeira MRR, Camillo-Coura LF. Uma breve revisão sobre toxoplasmose na gestação. Porto Alegre: Scientia Medica. 2010;20(1):113-9.
19. Mancini DT, Assis LC, Ramalho TC, Cunha EFF da. Toxoplasmose: Perspectivas no Estudo de Novos Alvos Terapêuticos. Rev Virtual Quim. 2012;4(4):434-55.
20. Kayer A. Toxoplasmosis: diagnosis, treatment, and prevention in congenitally exposed infants. J Pediatr Health Care. 2011;25(6): 355-64.
21. Spalding SM, Amendoeira MR, Klein CH, Ribeiro LC. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in South of Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2005;38(2):173-7.
22. Varella IS, Wagner MB, Darela AC, Nunes LM, Muller RW. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. Jornal de Pediatria. Rio de Janeiro. Porto Alegre. 2003;79(1).
23. Mozzatto L, Procianoy RS. Incidence of congenital toxoplasmosis in southern Brazil: a prospective study. Rev Ins Med Trop. São Paulo. 2003;45:147-51.
24. Pôrto AMF. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes atendidas no ambulatório pré-natal de uma maternidade-escola do Recife. Tese (Mestrado). Recife; 2005.
25. Leão PRD, Filho JM, Medeiros SF. Toxoplasmose: Soroprevalência em Puérperas atendidas pelo sistema único de saúde. Rev Bras Ginecol Obstet. Rio de Janeiro. 2004;26(8):627-32.
26. Souza Júnior VG, Figueiró Filho EA, Borges DC, Oliveira VM, Coelho LR. Toxoplasmose e gestação: resultados perinatais e associação do teste de avidez de IgG com infecção congênita em gestantes com IgM anti-Toxoplasma gondii reagente. Porto Alegre: Scientia Medica. 2010;20(1):45-50.
27. Puccini RF, Pedroso GC, Silva EMK, Araújo MS, Silva NN. Equidade na atenção pré-natal e ao parto em área da região metropolitana de São Paulo, 1996. Cad Saúde Pública. 2003;19:35-45.
28. Popes FMRM, Breganó RM, Capobiango JD, Inoue IT, Reiche EMV, Morimoto HK, et al. Programas de controle da toxoplasmose congênita. Rev Assoc Med Bras. 2011;57(5):594-9.
29. Margonato FB, Silva AMR, Soares DA, Amaral DA, Petris AJ. Toxoplasmose na gestação: diagnóstico, tratamento e importância de protocolo Clínico. Rev Bras Saúde Matern Infant. Recife; out/dez 2007;7(4):381-6.

Correspondência
Débora Pedroso
Rua Dr. João Augusto Rodrigues, 471 – Centro
98801-015 – Santo Ângelo-RS, Brasil

Utilização da contagem automatizada de granulócitos imaturos para diagnóstico da sepse

Use of automated immature granulocyte counting for the sepsis diagnosis

Vanessa Simone Carvalho Pereira

Resumo
Sepse é a presença de bactérias ou seus produtos tóxicos no sangue, levando ao surgimento de manifestações clínicas, por vezes de difícil prognóstico. Com grande incidência nos Estados Unidos e no Brasil, a sepse vem preocupando cada vez mais os profissionais da área de saúde e exigindo seu diagnóstico rapidamente. O aparecimento de células imaturas no sangue, granulócitos imaturos, pode ser indício de presença de sepse e a contagem dessas células sanguíneas é feita de forma automatizada através de citometria de fluxo. A detecção dessas células imaturas vem ganhando espaço nos laboratórios de análises clínicas para que o diagnóstico seja mais específico, iniciando uma terapêutica de forma rápida e eficaz.

Palavras-chave
Sepse; Citometria de fluxo; Granulócitos; Bactérias; Automação

INTRODUÇÃO

A atual definição de sepse é tida como a presença de disfunção orgânica associada a infecção, tendo a lactatemia como uma variável. Entretanto, pacientes apresentam grande variabilidade no que diz respeito ao fenótipo, aos resultados clínicos e prognóstico.[1] A partir da Conferência de Consenso de Sepse, realizada em 1991, as novas definições e critérios para o seu diagnóstico, mesmo não sendo de forma específica, permitiram que pesquisadores tivessem a mesma visão e comparassem seus resultados a partir dos ensaios realizados.[2] A definição terminológica tem auxiliado na investigação científica e na detecção precoce de casos de pacientes que estejam no leito. Este último elemento, associado ao tratamento adequado, tem se mostrado decisivo para um desfecho mais favorável da sepse.[3] A sepse continua sendo um grande desafio para a saúde pública, mesmo depois de anos de estudo e de progressão na compreensão da doença.[1] O seu diagnóstico é o primeiro desafio enfrentado pelos médicos, pelo fato de que sua identificação, quando não for feita de forma precoce, que permita alguma intervenção, poderá resultar em choque, falência orgânica ou até a morte do paciente.[2] Contudo o aparecimento de granulócitos imaturos (IG) no sangue periférico fornece informação importante sobre um aumento na produção da medula óssea, contribuindo desta forma para o auxílio no diagnóstico da sepse.[4]

O objetivo da presente revisão foi abordar a relevância da contagem automatizada de granulócitos imaturos no diagnóstico da sepse, buscando desta forma a obtenção de resultados mais precisos.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de uma pesquisa descritiva, retrospectiva, realizada por meio de uma revisão bibliográfica de literatura não sistemática, por meio da pesquisa de manuscritos, para levantamento e análise sobre o tema abordado. As bases de dados consultadas foram: *US National Library of Medicine* (PubMed) e *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), no período entre 2004 e 2015, elegendo-se apenas estudos realizados em seres humanos.

A partir de uma lista contendo dezessete artigos, quatro deles relatavam o uso da forma automatizada da contagem de granulócitos imaturos.

Os termos utilizados para pesquisa foram: granulócitos imaturos, contagem automatizada e sepse nos idiomas Inglês, Espanhol e Português. Os descritores em ciências da saúde (DeCS) utilizados para pesquisa foram: sepse,

[1]*Biomédica. Especialização em Análises Clínicas pela Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – Salvador-BA, Brasil.*

Instituição: Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – Salvador-BA, Brasil.

Artigo recebido em 18/01/2016
Artigo aprovado em 27/04/2016
DOI: 10.21877/2448-3877.201600457

citometria de fluxo, células sanguíneas, granulócitos, bactérias, laboratório.

EPIDEMIOLOGIA

A cada ano, a sepse adquire maior importância epidemiológica. Conforme relatos do *Center for Disease Control* (Centro de Controle de Doenças), a incidência de pacientes com sepse aumentou em mais de 90% na última década, nos Estados Unidos da América (EUA).[5] Ainda nos EUA, elevados casos de sepse e mortes relacionadas obtiveram um aumento de 82,7/100 mil habitantes para 240,4/100 mil, ainda que a taxa de mortalidade geral entre os pacientes tenha sido reduzida nos últimos vinte anos.[2]

Em um grande estudo prospectivo epidemiológico europeu, foram avaliados 14.364 pacientes internados em 28 Unidades de terapia intensiva (UTIs), onde 21,1% apresentaram infecção bruta, e os pacientes internados na UTI por mais de 24 horas, 18,9%, concluindo-se que cerca de 24% das infecções foram associadas a sepse grave, sendo que a mortalidade global de pacientes não infectados foi de 16,9% e a de pacientes com infecções hospitalares foi de 53,6%.[6] No Brasil, a taxa de mortalidade relacionada a sepse é em torno de 30%, sendo que 1.400 pessoas/dia no mundo vêm a óbito.

A sepse tem sido vista também como a principal causa de morte em UTIs não cardiológicas com altas taxas de letalidade. Assim sendo, ela vem adquirindo uma crescente importância devido ao aumento de sua incidência, seja num melhor atendimento de emergência, fazendo com que pacientes graves sobrevivam, aumento da população idosa e do número de pacientes imunossuprimidos, criando uma população susceptível para o desenvolvimento de infecções graves, assim como o crescimento da resistência bacteriana.[7] Outro fator relevante é o fato de que recém-nascidos (RN) prematuros apresentam maior risco de desenvolver sepse, pelo fato de que infecções perinatais e neonatais apresentam relação com as alterações do seu neurodesenvolvimento.[8]

Diante desses dados, o laboratório desempenha importante papel na monitoração das estratégias de tratamento, bem como no diagnóstico e determinação do prognóstico dos pacientes sépticos.[5] Em um estudo, no qual os dados foram analisados em 75 UTIs, correspondendo a 65 hospitais de todas as regiões do Brasil, as regiões sul e sudeste tiveram a maior participação, com 73,8% dos hospitais e 85,8% dos pacientes do estudo, mostrando maior incidência de sepse na rede particular e mortalidade na rede pública.[9]

O Brasil é um país de dimensões continentais com uma população heterogênea e acesso desigual aos serviços de saúde. Medidas para diminuir a prevalência e a mortalidade relacionadas a sepse na população brasileira devem ser incluídos nos programas nacionais de saúde.[6]

FISIOPATOLOGIA

De acordo com a ACCP (Faculdade Americana Especialista em Pneumologia) / SCCM (Sociedade Médica de Cuidados Críticos), tanto a SIRS (Síndrome da resposta inflamatória sistêmica) quanto a sepse são caracterizadas pela ocorrência de, pelo menos, dois de uma das seguintes condições:

1. temperatura corporal > 38°C ou < 36° C;
2. frequência cardíaca > 90 batimentos por minuto;
3. frequência respiratória > taxa de 20 respirações por minuto ou PaCO2 < 32 mm Hg;
4. contagem de células brancas do sangue > 12.000/mm³, < 4.000/mm³, ou > 10% de formas jovens.[4]

A hipotensão induzida por sepse é definida como pressão arterial sistólica (PAS) < 90 mmHg ou pressão arterial média (PAM) < 70 mm Hg ou queda na PAS > 40 mmHg ou menos de dois desvios padrão abaixo do normal para a idade na ausência de outras causas de hipotensão. A hipoperfusão de tecido induzida por sepse é definida como hipotensão induzida por infecção, aumento de lactato ou oligúria.[10] A deficiência progressiva de substratos de energia contribui para alterar a função dos órgãos; e um maior número de disfunção orgânica é o pior prognóstico de sepse na clínica, que, associado ao lactato como elemento importante, é usado para tentar quantificar a magnitude do processo "disóxico" que ocorre no corpo.[11] O predomínio global de sepse grave em pacientes que apresentam inicialmente hipotensão com lactato ≥ 4 mmol//L, somente hipotensão, ou somente lactato ≥ 4 mmol/L, é relatado como 16,6%, 49,5% e 5,4%, respectivamente.[10] O diagnóstico precoce no paciente crítico é necessário para tratar a infecção e evitar a perda da eficácia da antibioticoterapia devido à administração tardia. Na fase aguda, as concentrações de muitas proteínas séricas estão elevadas em resposta à inflamação, infecção, trauma ou dano tecidual.[4]

AVALIAÇÃO LABORATORIAL

Na última década, inúmeros marcadores têm sido sugeridos para o diagnóstico precoce da sepse, dentre os quais está a dosagem sérica de algumas citocinas: interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8) e interleucina-10 (IL-10), fator de necrose tumoral (TNF), proteínas de fase aguda (proteína C-reativa) e procalcitonina.[2] As interleucinas 6, 8 e 10 são as mais utilizadas na dosagem para sepse; entretanto, o alto custo e a meia-vida curta, bem como a necessidade de processamento imediato da amostra ou seu congelamento, são obstáculos importantes ao uso clínico de rotina, estando sua dosagem ainda restrita a laboratórios de pesquisa. Os níveis séricos da Proteína C-reativa atingem seu pico máximo depois de 48

horas e aumentam durante infecções menores, podendo permanecer elevados vários dias após eliminação do foco infeccioso, não se correlacionando com a gravidade da resposta do hospedeiro e não sendo capaz de diferenciar sobreviventes e não sobreviventes da sepse, em diferentes estudos.[5] A procalcitonina (PCT) é atualmente utilizada como um parâmetro clínico de suporte para esclarecer o diagnóstico, mas devido ao seu elevado valor preditivo negativo (99%) é mais frequentemente usado para descartar sepse.[4] Mais de trinta estudos cegos randomizados envolvendo 12 mil pacientes mostraram que o uso de anticorpos bloqueadores (antagonista de receptor IL-1, receptor solúvel TNF) não alterou o curso clínico ou a mortalidade de pacientes com sepse, e, algumas vezes, até prejudicou estes pacientes.[2]

Parâmetros de coagulação são importantes no diagnóstico de sepse porque é um estado de hipercoagulabilidade frequentemente presente antes do aparecimento dos sinais clínicos.[12] Os neutrófilos são os leucócitos que predominam no sangue periférico e representam defesa contra infecções. Os fatores de crescimento e as citocinas, produzidas pelos macrófagos teciduais e outras células, induzem o aumento da produção de neutrófilos pela medula óssea e faz a liberação, de forma imatura, para o sangue periférico. Em condições normais, os neutrófilos encontrados no sangue periférico estão na sua forma mais madura, a de segmentado. Mas, no surgimento de um processo infeccioso agudo, os granulócitos imaturos (IG) podem ser vistos no sangue periférico, incluindo o aumento da contagem de bastonetes. Assim, o desvio à esquerda significa a elevada contagem de bastonetes, acompanhada ou não da presença de granulócitos imaturos.[12]

Granulócitos imaturos são células encontradas geralmente na medula óssea de pacientes normais e podem estar presentes no sangue periférico devido a alguma alteração fisiológica ou patológica do organismo. São precursores neutrofílicos que são divididos de acordo com o grau de maturação oriundo dos mieloblastos.[13] Assim, a contagem do IG automatizado pode funcionar como um teste de rastreio para doenças infecciosas e distúrbios mieloides, resultando em diagnóstico precoce e intervenção.[14] A presença de granulócitos imaturos é uma informação importante porque mostra que a medula óssea está ativada e, também, pode fazer a distinção entre pacientes com neoplasias hematológicas dos pacientes com processo infeccioso bacteriano agudo.[13]

Os contadores hematológicos convencionais podem identificar e enumerar apenas leucócitos normalmente encontrados no sangue periférico, isto é, neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos.[15] É necessária a identificação de formas imaturas utilizando-se a microscopia, um trabalho demorado e intensivo, mas que teria a sua precisão comprometida devido a variáveis como o baixo número de células contadas, a variação entre microscopistas exigindo assim o uso de um contador automático mais confiável.[14] A contagem do IG pelo método automatizado pode ser realizada por um analisador multiparamétrico, que oferece a possibilidade de detectar IGs classificados como metamielócitos, mielócitos e promielócitos pela identificação na contagem diferencial de células brancas por citometria de fluxo no canal-DIFF. Além da quantificação das imunoglobulinas, as propriedades físicas de células imaturas e neutrófilos reativados são fornecidas. Por conseguinte, as amostras de sangue são incubadas com um corante fluorescente, normalmente usa-se o Fluorocel, e um reagente, lisando seletivamente a membrana de leucócitos maduros. Células mieloides imaturas não são modificadas no seu tamanho, estrutura e integridade, porque o IG tem um teor de colesterol inferior ao de granulócitos maduros, e a sua composição de fosfolipídeo tem uma proporção relativamente mais elevada de fosfatidilcolina e uma proporção menor de esfingomielina.

Dependendo do ângulo de dispersão, quando a célula passa no feixe de um laser semicondutor, informações sobre o volume, a estrutura interna e a complexidade, e o conteúdo de DNA/RNA de cada célula são obtidos por uma combinação de luz dispersa para a frente (mede o tamanho celular), de luz dispersa lateral (mede a estrutura interna da célula), e luz fluorescente lateral, que mede o tamanho do núcleo. A luz é recebida por um fóton diodo e um tubo de fotomultiplicador, respectivamente, sendo, então, convertida em impulsos elétricos.[16] A detecção do tamanho da célula, a informação sobre os núcleos e composição do citoplasma são geradas pela resistência da corrente de radiofrequência direta quando as células passam por uma abertura no canal-IMI. O princípio da reação canal-IMI baseia-se em diferenças na composição da membrana entre as células maduras e imaturas.[17] A corrente contínua (DC) de altura de pulso é equivalente ao volume da célula. A frequência de rádio (RF) de medição fornece informações sobre a composição interna da célula (núcleo, grânulos). Diferenças na resistência RF detectadas como impulsos elétricos são representadas num diagrama de dispersão bidimensional que reflete a distribuição de tamanho de célula e do núcleo.[13]

Recentemente, uma empresa que trabalha com esses contadores automatizados, introduziu um *software* modificado de IG, chamado IG Mestre, que foi validado contra uma citometria de fluxo padrão "ouro" e aprovado para uso clínico. Este novo *software* utiliza uma estratégia de *gating* flexível, que pode produzir contagens mais precisas de IG. Até o momento, existem poucos estudos clínicos publicados utilizando este método de IG Mestre que vem sendo usado nos Estados Unidos.[18] Neste cenário, uma variedade de aplicações citofluorimétricas vem sendo desenvolvida e aprimorada, devido a um crescente desenvolvi-

mento dos recursos e tecnologia dos citômetros. Atualmente podemos encontrar no mercado citômetros de fluxo equipados com até seis *lasers*, com maior número de fotossensores capazes de detectar até 11 comprimentos de onda diferentes.[19]

A excelente reprodutibilidade da contagem IG é devido à sua elevada fiabilidade estatística quando comparada com o diferencial de 100 células tradicional. O analisador produz valores de IG com um CV (coeficiente de variação) de apenas 7%, enquanto que o diferencial manual de rotina oferece um CV teórico de aproximadamente 50%.[16] Contagens automatizadas de IG permitem oferecer potenciais vantagens de melhoria da exatidão, precisão e tempo de resposta em comparação com contagens diferenciais manuais.[18]

DISCUSSÃO

Este estudo abordou a contagem de granulócitos imaturos de forma automatizada, que serve de parâmetro para o diagnóstico de sepse. E de acordo com a Diretriz da campanha de sobrevivência para tratamento de sepse grave e choque séptico, existem distinções entre definições e metas ou limites terapêuticos para que ela possa ser diagnosticada de forma precisa. Essas distinções referem-se ao estado febril ou não do paciente, pressão arterial sistólica e pressão arterial média. De acordo com esses critérios ficou determinado que sepse é toda resposta inflamatória sistêmica a uma infecção, onde o diagnóstico precoce de um paciente crítico torna-se fator determinante para que a terapia tenha eficácia. O índice de casos de sepse chega a 90% nos EUA de acordo com o Centro de Controle de Doenças. E num estudo feito por João Andrade et al., as regiões sul e sudeste do Brasil são tidas como detentoras dos maiores índices de sepse. No auxílio ao diagnóstico, os marcadores interleucina-1(IL-1), interleucina-6(IL-6), interleucina-8(IL-8), interleucina-10(IL-10), fator de necrose tumoral (TNF), proteína C-reativa (PCR) e procalcitonina são usados. Alguns marcadores, como a IL-6,8 e 10, são os mais usados na dosagem para sepse; entretanto, devido ao seu alto custo e à meia-vida curta, deixaram de ser utilizados, voltando-se apenas para a área de pesquisa. A PCR atinge seu pico máximo depois de 48 horas e aumenta durante infecções menores, podendo permanecer elevada vários dias após eliminação do foco infeccioso, não tendo grande valia em diagnosticar um caso de sepse. O TNF não altera o curso clínico ou a mortalidade de pacientes com sepse e, algumas vezes, chega a prejudicar esses pacientes pela baixa especificidade. E a procalcitonina atualmente é usada para descartar a presença de sepse pelo alto valor preditivo negativo que apresenta; seus níveis encontram-se elevados em 3 a 6 horas após o início da infecção e possui uma alta sensibilidade e especificidade. A contagem de IG nos laboratórios é feita de modo automatizado para que se obtenha uma maior precisão nos resultados. Diante deste fato, o artigo publicado por Fernandes et al. fez uma comparação com três amostras, entre a contagem de IG pelo método manual e pela citometria de fluxo, tida como referência. Houve uma diferença de 0,98% de imprecisão intraensaios e 3,28% de imprecisão total, confirmando-se que o método automatizado proporciona mais exatidão e precisão. Foi realizada também uma comparação por meio de Regressão Linear entre contagem de IG por aparelho automatizado e pela citometria de fluxo, obtendo-se uma satisfatória correlação entre eles, validando desta forma sua utilização na clínica laboratorial. Os contadores automatizados utilizam, na sua contagem diferencial, a identificação de IG por citometria de fluxo no canal – DIFF, o qual, através de feixes, consegue determinar a estrutura interna da célula e o tamanho do núcleo. Por ter tamanha precisão e exatidão na sua execução, um novo padrão "ouro" foi desenvolvido nos Estados Unidos para que a sensibilidade e a especificidade aumentem a cada estudo desenvolvido. Por apresentar tantos benefícios em relação à contagem manual, os laboratórios de análises clínicas vêm usando aparelhos automatizados como auxiliar no diagnóstico de sepse.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do que foi exposto neste artigo fica configurada a importância da contagem automatizada de granulócitos imaturos no diagnóstico da sepse, associada com os resultados dos exames de procalcitonina e lactato, garantindo assim maior agilidade no tratamento, melhor acompanhamento prognóstico e consequente sobrevida aos pacientes acometidos. Não deixando de salientar que, quando o aparelho apresenta flag, é preciso que uma lâmina deste paciente seja feita para que o microscopista também faça a identificação dessas células imaturas, tornando dessa forma seu trabalho indispensável para o fechamento do diagnóstico juntamente com a forma automatizada.

Abstract

Sepsis is the presence of bacteria and their toxic products in the blood, leading to the appearance of clinical symptoms sometimes difficult to predict. Which are prevalent in the United States and Brazil, sepsis is increasingly concerned health professionals and demanding diagnosis quickly. The appearance of immature blood cells, Immature granulocytes, may indicate the presence of sepsis and counting these blood cells is made in an automated way via flow cytometry. Detection of these immature cells has been gaining ground in Clinical Analysis laboratories for the diagnosis to be more specific, starting a therapy quickly and effectively.

Keywords

Sepsis; Flow cytometry; Granulocytes; Bacterial infections; Automation

REFERÊNCIAS

1. Ranzani OT, Monteiro MB, Ferreira EM, Santos SR, Machado FR, Noritomi DT. Reclassifying the spectrum of septic patients using lactate: severe sepsis, cryptic shock, vasoplegic shock and dysoxic shock. Rev Bras Ter intensiva [Internet]. 2013;25(4):270-8. Available from:http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4031869&tool=pmcentrez&rendertype=abstract
2. Carvalho PRA, Trotta EDA. Avanços no diagnóstico e tratamento da sepse. J Pediatr (Rio J). 2003;79:195-204. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572003000800009&lng=en. http://dx.doi.org/10.1590/S0021-75572003000800009.
3. Siqueira-Batista R, Gomes AP, Calixto-Lima L, Vitorino RR, Perez MCA, Mendonça EG De, et al. Sepse: atualidades e perspectivas. Rev Bras Ter Intensiva. 2011;23(2):207-16.
4. Nierhaus A, Klatte S, Linssen J, Eismann NM, Wichmann D, Hedke J, et al. Revisiting the white blood cell count: immature granulocytes count as a diagnostic marker to discriminate between SIRS and sepsis - a prospective, observational study. BMC Immunol [Internet]. BMC Immunology; 2013;14(1):8. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3575223&tool=pmcentrez&rendertype=abstract
5. Introdução. Diagnóstico Laboratorial da Doença Celíaca. :1-3.
6. Silva E, Pedro Mde A, Sogayar AC, Mohovic T, Silva CL, Janiszewski M, et al; Brazilian Sepsis Epidemiological Study. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). Crit Care. 2004; 8(4):R251-60.
7. Instituto Latino-Americano para Estudos da Sepse - Ilas IL-APEDS. Sepse: um problema de saúde pública. Brasília. 2015.
8. Ferreira RC, Mello RR, Silva KS. Neonatal sepsis as a risk factor for neurodevelopmental changes in preterm infants with very low birth weight. J Pediatr (Versão em Port [Internet]. 2014;90(3):293-9. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2255553614000640
9. Sales Júnior JAL, David CM, Hatum R, Souza PCSP, Japiassú A, Pinheiro CTS, et al. Sepse Brasil: estudo epidemiológico da sepse em Unidades de Terapia Intensiva brasileiras. Rev. bras. ter. intensiva. 2006;18:9-17.
10. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign. Crit Care Med [Internet]. 2013;41:580-637. Available from: papers2://publication/doi/10.1097/CCM.0b013e31827e83af
11. Leandro M, Muñoz Z, Barragán FJ. Fisiopatología , importancia y utilidad del lactato en pacientes con sepsis. Iatreia.2010; 23:278-85.
12. Laboratorial H, Cat U, Federal U. Visão Acadêmica, Curitiba, v.14,. 2013;99-108.
13. Whisler S, Dahlgren C. Performance evaluation of the Sysmex pocH-100i automated hematology analyzer. Lab Hematol. 2005; 11(2): 107-17.
14. Bruegel M, Fiedler GM, Matthes G, Thiery J. Reference Values for Immature Granulocytes in Healthy Blood Donors generated on the Sysmex XE-2100 Automated Hematology Analyser. Sysmex Journal International. 2004;14(1):4-6.
15. Fernandes B, Hamaguchi Y. Automated enumeration of immature granulocytes. Am J Clin Pathol. 2007;128(3):454-63.
16. Xtra S. The Immature Granulocyte Count - The first to know about inflammation. 2011;(November):1-4.
17. Cimenti C, Erwa W, Herkner KR, Kasper DC, Müller W, Resch B. The predictive value of immature granulocyte count and immature myeloid information in the diagnosis of neonatal sepsis. Clin Chem Lab Med. 2012;50:1429-32.
18. Nigro KG, O'Riordan M, Molby EJ, Walsh MC, Sandhaus LM. Performance of an automated immature granulocyte count as a predictor of neonatal sepsis. Am J Clin Pathol. 2005;123:618-24.
19. Plataforma de Citometria de Fluxo Núcleo de Purificação Celular (sorting) IOC - Fiocruz.

Correspondência

Vanessa Simone Carvalho Pereira

Av. Dom João VI,n° 275 – Brotas

40290-000 – Salvador-BA, Brasil

Tratamento da fase crônica da Doença de Chagas: revisão sistemática

Treatment of chronic phase of Chagas Disease: systematic review

Larissa Lima Mendes[1]
Mariana Santos da Silva[1]
Ana Luisa Oenning Martins[2]

Resumo
A tripanossomíase americana, mais conhecida como Doença de Chagas (DC), tem por agente causal o *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Para efeitos práticos, o tratamento da DC pressupõe uma terapêutica específica e sintomática, embora haja divergências quanto às porcentagens de cura no tratamento etiológico da DC. **Objetivo:** Realizar uma revisão sistemática da literatura avaliando a eficácia do tratamento durante a fase crônica da DC. **Métodos:** Revisão sistemática da literatura nas bases de dados: Medline, Lilacs, Cochrane e SciELO, para identificar estudos relevantes, utilizando os descritores "Chagas disease AND treatment", "trypanossomiasis AND treatment", "Chagas disease AND benzonidazole" e "trypanossomiasis AND benzonidazole", onde foram avaliados os artigos publicados nos últimos dez anos. Para avaliação da qualidade metodológica dos ensaios clínicos randomizados controlados utilizou-se o escore Jadad, e para estudos observacionais, o instrumento de avaliação crítica utilizado foi a escala de avaliação Newcastle-Ottawa. **Resultados:** Foram encontrados 1.645 artigos nas diferentes bases de dados, sendo quatro incluídos para análise (dois ensaios clínicos randomizados e dois estudos caso controle). **Conclusão:** Os resultados demonstram que o tratamento etiológico da DC pode trazer benefícios durante a progressão clínica da doença e fornecer melhor prognóstico para os pacientes, particularmente quando administrados na forma indeterminada da doença.

Palavras-chave
Doença de Chagas; *Trypanosoma cruzi*; Antiparasitários

INTRODUÇÃO

A tripanossomíase americana, mais conhecida como Doença de Chagas (DC), tem por agente causal o *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), que provoca no homem quadros clínicos com variadas características e consequências. A cardiopatia chagásica e as dilatações de órgãos cavitários são as que se destacam por sua gravidade. Na fase crônica, as lesões cardíacas são responsáveis por elevada mortalidade.[1]

A DC é um grave problema de saúde pública na América Latina e um dos principais problemas médico-sociais brasileiros. Na América Latina, a DC é considerada, entre as doenças infecciosas e parasitárias, a de quarto maior impacto social.[2]

Para efeitos práticos, o tratamento da DC pressupõe uma terapêutica específica (contra o parasito, visando eliminá-lo) e sintomática (para atenuação dos sintomas).[3]

Somente nos anos 40 alguns compostos mostraram alguma ação contra o *T. cruzi* em modelos experimentais e casos agudos humanos. O principal deles foi a aminoquinolina "Bayer 7.602", com discreta atividade parasiticida, seguindo-se um arsenical, denominado spirotrypan, muito usado nos anos 50. Estes fármacos muito tóxicos reduziam efetivamente o número de parasitas circulantes da doença na fase aguda, porém eram praticamente ineficazes na fase crônica, nunca logrando a extinção total do parasitismo, como seria necessário para a cura. A DC ganhou o estigma de incurável.[4]

No final da década de 1960, alguns experimentos indicaram a necessidade de que o tratamento fosse prolongado (até 60 dias) e ocorreu o surgimento de fármacos mais ativos, os nitrofuranos. Dentre estes, o mais efetivo foi o nifurtimox, que realmente levou à cura vários casos agudos e mesmo alguns crônicos. Mais adiante surgiu outro fármaco um pouco mais efetivo, um derivado imidazólico denomina-

[1]*Graduanda. Universidade do Sul de Santa Catarina (Unisul) – Tubarão-SC, Brasil.*
[2]*Mestre. Professora - Universidade do Sul de Santa Catarina (Unisul) – Tubarão-SC, Brasil.*

Instituição: Universidade do Sul de Santa Catarina (Unisul) – Tubarão-SC, Brasil.

Artigo recebido em 03/12/2015
Artigo aprovado em 14/03/2016
DOI: 10.21877/2448-3877.201600437

do benzonidazol.[5] No Brasil, o benzonidazol é a única droga disponível para o tratamento específico da DC. Em casos de intolerância ao benzonidazol pode-se utilizar o nifurtimox, existente na América Central.[6] O tratamento com benzonidazol exige cuidadosa atenção para adequação da dose do fármaco e para o manejo de reações colaterais que ocorrem em cerca de 30% a 40% dos pacientes, em gravidade variável.

Embora haja divergências quanto às porcentagens de cura no tratamento etiológico da DC, há consenso sobre a sua utilidade, a depender de circunstâncias, como: fase da doença, idade do paciente e condições associadas. A comprovação de cura, especialmente na fase crônica, depende de fatores como o tempo de seguimento e os exames utilizados.[7]

Na fase aguda, definida pela evidência do *T. cruzi*, no exame direto do sangue periférico, o tratamento deve ser realizado em todos os casos e o mais rápido possível, após confirmação diagnóstica, independente da via de transmissão. Devido à toxicidade das drogas disponíveis, não é recomendado o tratamento durante a gestação. A DC aguda é de notificação compulsória.[8]

Embora faltem evidências que garantam o sucesso da terapia nas diferentes circunstâncias, o tratamento específico pode ser instituído na forma crônica recente. Para essa finalidade considerou-se como recente o período de cinco a doze anos após a infecção inicial. Para a fase crônica de maior duração, o tratamento tem sido indicado na forma indeterminada e nas formas cardíacas leves e digestivas.[7] O papel do tratamento antiparasitário na fase crônica é discutível porque faltam maiores evidências de estudos tanto em modelos experimentais da doença como no seguimento de pacientes crônicos.[9]

Médicos e outros profissionais da saúde encontram dificuldades na elaboração de protocolos para o tratamento da DC, especialmente na fase crônica da doença. Por este motivo, reconhece-se a necessidade de revisão periódica sobre o tema, de forma a contribuir com a orientação e manejo clínico do paciente. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sistemática da literatura avaliando a eficácia do tratamento durante a fase crônica da DC.

MATERIAL E MÉTODOS

Revisões sistemáticas são baseadas em estudos primários, utilizando-se métodos previamente definidos e explícitos para identificação, seleção e avaliação crítica das pesquisas consideradas relevantes. As revisões sistemáticas, através de pesquisa bibliográfica classificatória, também contribuem como suporte teórico-prático.[10]

Foram avaliados artigos publicados nos últimos dez anos nas bases de dados Medline (PubMed), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (Lilacs), *Cochrane Controlled Trials Data Bases* e SciELO, para identificar estudos relevantes nos idiomas Inglês, Português e Espanhol.

O processo de busca utilizou os seguintes descritores: "Chagas disease AND treatment", "trypanossomiasis AND treatment", "Chagas disease AND benzonidazole" e "trypanossomiasis AND benzonidazole".

Dos estudos selecionados, como critérios de inclusão foram considerados aqueles que abordassem ensaios clínicos randomizados e estudos epidemiológicos observacionais com resumo disponível. Os critérios adotados para a exclusão dos estudos compreenderam aqueles que continham: capítulos de livro, resumos de evento, editoriais, revisões sistemáticas, meta-análises, estudos transversais e artigos de opinião.

Inicialmente, para verificar se os artigos atendiam aos critérios de inclusão, os títulos de todos os estudos identificados foram avaliados por dois revisores independentes. As duplicatas foram excluídas em reunião e, para os casos em que houve discordância entre os revisores quanto à inclusão do estudo, houve avaliação por um terceiro revisor. Após estas etapas, os artigos foram selecionados conforme os resumos disponíveis e analisados pelos critérios de inclusão. Posteriormente, os estudos incluídos na revisão sistemática foram selecionados de acordo com a análise de qualidade.

Para avaliação da qualidade metodológica dos ensaios clínicos randomizados controlados utilizou-se o escore Jadad, que varia de 0 a 5 e que seleciona, para a continuidade do processo crítico, os ensaios clínicos com Jadad ≥ 3.[11]

Aplicou-se um ponto para cada resposta positiva referente às questões abaixo:

- O estudo foi descrito como randomizado?
- O estudo foi descrito como duplo cego?
- Há descrição das perdas?

Aplicou-se mais um ponto para cada resposta onde houve:

- Randomização apropriada.
- Cegamento apropriado.

Retirou-se um ponto onde houve:

- Randomização inapropriada.
- Cegamento inapropriado.

Para estudos observacionais, o instrumento de avaliação crítica utilizado foi a escala de avaliação Newcastle-Ottawa.[12]

O processo de avaliação crítica com o uso dessa escala deve fornecer pontuação ≥ 6. O Quadro 1 explicita a pontuação possível máxima para cada componente analisado.

O processo de avaliação da qualidade dos estudos também foi realizado por dois revisores independentes, com a participação de um terceiro revisor quando não houve consenso.

Quadro 1 - Componente dos estudos Caso-controle e Coorte analisados pela Escala New-Castle.

Componente Analisado	Desenho de Estudo	
	Caso controle	Coorte
Seleção dos Pacientes (4 pontos)	Definição de caso Representação do caso Seleção do controle Definição do controle	Representatividade dos expostos Seleção dos não-expostos Método de exposição Ausência do desfecho
Comparabilidade (2 pontos)	Caso versus controle na base do desenho do estudo	Caso versus controle nas bases do desenho do estudo
Exposição (Caso-controle)	Método de exposição Caso e controle expostos com igualdade	Avaliação do desfecho Seguimento longo para o desfecho
Desfecho (coorte) (3 pontos)	Índice de não-resposta semelhante	Seguimento completo

Fonte: Bernardo, 2008.[13]

Os dados coletados dos artigos selecionados foram organizados em tabela, de acordo com autor e ano de publicação, protocolo de tratamento, nº de participantes, tempo do estudo, tempo de seguimento e escores de qualidade metodológica obtidos pelo escore de Jadad e pela escala de avaliação *The Newcastle* - Ottawa.

RESULTADOS

O total de artigos identificados nas bases de dados foi igual a 1.645: Medline (PubMed) - 922, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (Lilacs) - 498, *Cochrane Controlled Trials Data Bases* - 02 e SciELO - 223.

A seleção foi realizada conforme descrito a seguir:

– Publicações potencialmente elegíveis identificadas nas bases bibliográficas através dos descritores: 1.645

– Seleção dos estudos através dos títulos avaliados por dois revisores independentes: 213

– Total de estudo após a remoção de duplicidades: 84

– Seleção dos estudos através dos resumos disponíveis: 52

– Total de estudos após exclusão de resumos que não preenchiam os critérios de inclusão: 15

– Estudos incluídos na revisão sistemática após avaliação da qualidade metodológica: 04

Ao todo, foram analisados quatro artigos sobre o tratamento da DC. A Tabela 1 mostra a sua distribuição segundo o ano, a revista, nº de participantes, tempo do estudo, tempo de seguimento e escores de qualidade metodológica.

O objetivo do estudo de Bertocchi et al.[14] foi determinar o efeito da terapia com benzonidazol sobre a imunidade específica contra *o T. cruzi* em pacientes na fase crônica da DC. Os pacientes desse estudo foram selecionados entre os pacientes atendidos no setor de doença de chagas no Hospital Eva Peron em Buenos Aires. A infecção por *T. cruzi f*oi determinada por imunofluorescência indireta, hemaglutinação indireta e Elisa (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*). Os participantes do estudo foram divididos em dois grupos, tratamento e controle em uma razão de 2:1, respectivamente. Os pacientes foram tratados com uma dose oral máxima de benzonidazol de 5 mg/Kg por dia por trinta dias. A frequência de linfócitos T de memória específicos contra o *T. cruzi* foi significativamente mais baixa no grupo tratado, 12 meses após o início da terapia. Os achados deste estudo mostraram que o benzonidazol é capaz de modular a resposta específica dos linfócitos T contra o *T. cruzi.*

Tabela 1 - Características dos estudos sobre tratamento das fase crônica da doença de Chagas, segundo o ano, revista, nº de participantes, tipo de estudo, tempo de seguimento e escore de qualidade metodológica

Artigo	Ano de publicação	Revista	Tipo de estudo	Amostra	Tempo de seguimento	Escore de qualidade
Bertocchi, et al.[14]	2008	Revista Argentina de Cardiologia	Ensaio clínico	47	02 anos	05
Fernandes, et al.[15])	2009	Mem. Inst. Oswaldo Cruz	Coorte	80	03 anos	07
Assis, et al.[16]	2013	Mem. Inst. Oswaldo Cruz	Coorte	58	13 anos	06
Molina, et al.[17])	2014	The New England Journal Medicine	Ensaio clínico	78	01 ano	03

Fonte: Elaboração das autoras, 2015.

Fernandes et al.[15] conduziram um estudo de coorte no Rio Grande do Sul com o objetivo de avaliar a eficácia do tratamento com benzonidazol em pacientes com a forma crônica indeterminada da DC. Oitenta pacientes receberam 5 mg/Kg de benzonidazol, duas vezes ao dia por sessenta dias, sendo que os mesmos foram acompanhados por um período de três anos através da realização de sorologia, hemocultura e PCR. Ao final do estudo, quatro pacientes apresentaram sorologia negativa em dois testes diferentes, evidenciando cura parasitológica.

Assis et al.[16] observaram a progressão da DC em indivíduos diagnosticados 13 anos antes em uma área endêmica do Brasil. Um grupo foi tratado com benzonidazol (5 mg/Kg por dia, por sessenta dias) e o outro grupo não foi tratado (grupo controle), sendo que a maior parte dos pacientes estava na fase indeterminada da doença. O diagnóstico de DC foi realizado por meio da imunofluorescência indireta e Elisa. Neste estudo, os dados laboratoriais e clínicos dos dois grupos foram obtidos e comparados antes do tratamento, em 1997, e 13 anos depois, em 2010. Depois de 13 anos de seguimento, a avaliação clínica mostrou que 27,6% dos pacientes tratados tiveram progressão clínica e 65,5% dos pacientes não tratados também progrediram clinicamente.

O objetivo do estudo de Molina et al.[17] foi avaliar a eficácia, segurança e efeitos colaterais do tratamento de pacientes com DC utilizando um grupo tratado com benzonidazol e outro grupo tratado com posaconazol. O diagnóstico da doença foi feito através do PCR. Os pacientes foram acompanhados por quarenta semanas após o final do tratamento. Dezesseis (61,5%) dos 26 pacientes do grupo tratado com benzonidazol apresentaram, após o período de seguimento, amostra negativa após a realização do PCR.

DISCUSSÃO

A infecção humana por *T. cruzi* induz uma resposta imune na maioria dos pacientes e é comum que a mesma evolua para uma infecção crônica indolente. Uma proporção de pessoas infectadas desenvolve doença crônica sintomática com dois principais padrões: doença cardíaca ou síndromes gastrintestinais.[18] O tratamento da DC baseia-se no uso de dois compostos nitroderivados, benzonidazol e nifurtimox, descobertos há mais de quatro décadas.[19] O nifurtimox foi utilizado extensivamente durante três décadas, mas atualmente não está disponível em vários países, incluindo o Brasil. A terapia com benzonidazol tem eficácia similar ao nifurtimox, com a vantagem de produzir menor incidência de efeitos colaterais.[1]

Muitos estudos sugerem que o tratamento etiológico da DC leva à negativação de resultados sorológicos e/ou na prevenção de mudanças eletrocardiográficas e clínicas relacionadas à progressão da doença.[20-22] Entretanto, outros estudos são contraditórios e indicam que, quando o tratamento é administrado durante a fase crônica, o parasito não é eliminado e a progressão da doença não é interrompida; portanto, as complicações da infecção não são prevenidas.[9,23-25]

O tratamento da infecção para o *T. cruzi* ainda é controverso para indivíduos na fase crônica da doença. O primeiro Guia Latino-Americano para o Diagnóstico e Tratamento da Cardiomiopatia Chagásica Crônica não faz recomendações a respeito do tratamento de indivíduos na fase indeterminada ou da fase cardíaca determinada. Na tentativa de superar essas limitações, alguns estudos prospectivos foram realizados, enquanto outros ainda estão em andamento.[26]

Muitos estudos observacionais já finalizados foram realizados com pacientes na fase crônica da DC, que é a fase na qual a maior parte dos indivíduos infectados recebe o diagnóstico.[20,21,24,25,27-31] Nesta revisão sistemática, após exclusão baseada na avaliação da qualidade metodológica, foram selecionados quatro artigos, sendo dois ensaios clínicos e dois estudos de coorte, todos conduzidos com pacientes na fase crônica da DC.

A pesquisa de Bertocchi et al.,[14] realizada em 2008, avaliou o impacto da terapia com benzonidazol no estágio crônico da infecção por *T. cruzi* na resposta imune celular específica para este parasito. Os resultados mostraram que a terapia etiologicamente direcionada contra o *T. cruzi* pode modular a resposta das células T de memória específicas do parasito. No estudo, 44% dos pacientes tratados com benzonidazol mostraram resposta imunológica negativa com relação aos linfócitos T associados à infecção por *T. cruzi.* Destes, 36% apresentaram sorologia negativa para *T. cruzi* dois anos após o tratamento.[14] Alguns autores sustentam a ideia de que a infecção crônica por *T. cruzi* levaria à exaustão do sistema imune, como consequência da persistência do antígeno no organismo. Isso pode afetar a capacidade do sistema imune em controlar a infecção, levando à progressão da doença.[32] Uma melhor compreensão da cinética da parasitemia e da resposta imunológica após o tratamento pode ajudar a desenvolver algoritmos de manejo clínico para infecção chagásica crônica.

No estudo de Fernandes et al.,[15] durante o período de seguimento, métodos sorológicos, parasitológicos e PCR foram utilizados para avaliar a resposta ao tratamento com o benzonidazol. Houve 100% de concordância entre os ensaios Elisa e IFI (imunofluorescência indireta). No entanto, títulos distintos de anticorpos foram encontrados nestes pacientes, possivelmente como consequência de uma grande heterogeneidade genética do parasito, o que poderia influenciar na resposta imune dos indivíduos parasitados.[33,34] Neste estudo, nenhum dos oitenta pacientes tratados apresentou hemocultura positiva após os três anos de acompanhamento. Um exame parasitológico negativo por si só não

representa sucesso no tratamento, no entanto, sua positividade após a quimioterapia representa o fracasso terapêutico.[15] A interpretação dos resultados de PCR no diagnóstico da DC é controversa, pois um resultado positivo pode refletir a detecção do DNA do parasito ou ainda a presença do parasito intacto ou lisado.[35] O estudo de Fernandes et al.[15] mostrou que 5% dos pacientes submetidos ao tratamento com benzonidazol foram curados após três anos de seguimento, já que apresentaram PCR negativo e sorologia negativa para o *T. cruzi*.

Os resultados de Assis et al. (2013)[16] demonstraram que tanto os pacientes tratados quanto os não tratados apresentaram sorologia positiva para o *T. cruzi* 13 anos após o início do estudo. Entretanto, os pacientes tratados apresentaram menores títulos sorológicos do que os não tradados, o que também foi verificado por outros autores.[15,21,36] Após o período de seguimento, Assis et al. (2013)[16] demonstraram que 27,6% dos pacientes tratados demonstraram progressão clínica contra 65,5% dos pacientes não tratados. Tais resultados indicam que o tratamento etiológico atrasa a progressão clínica da doença e melhora o prognóstico do paciente, mesmo em casos nos quais a cura parasitológica não é observada. Neste estudo, também foram incluídos pacientes com as formas cardíaca e digestiva, entretanto, devido ao baixo número dos mesmos, não foi possível definir uma interpretação definitiva acerca do tratamento etiológico nesta fase da doença.

No estudo de Molina et al., (2014)[17] o benzonidazol apresentou atividade tripanocida sustentada. Dos pacientes tratados, 94% apresentaram PCR negativo até o final do seguimento. Neste mesmo estudo, alguns pacientes tiveram que descontinuar o tratamento com o benzonidazol por conta de efeitos adversos (dermatite alérgica). Embora os resultados deste autor pareçam indicar um efeito benéfico do tratamento com benzonidazol, uma metanálise de estudos concluiu que a eficácia desta droga no estágio crônico da DC é duvidosa.[37]

Estudos de revisão sistemática são importantes para analisar pesquisas desenvolvidas em uma determinada área do conhecimento, facilitando o acesso aos pesquisadores que precisam de uma revisão rápida, além de direcionar estudos futuros. A presente revisão apresenta como limitação o fato de não terem sido pesquisadas bases de dados diferentes da PubMed, SciELO, Lilacs e Cochrane, o que pode ter reduzido a chance de identificação de estudos importantes. Além disso, diferenças na forma como os estudos foram realizados podem ter trazido impacto para os resultados obtidos. Cada estudo teve seu próprio critério de elegibilidade e foi conduzido em diferentes contextos.

Os resultados verificados nesta revisão sistemática sugerem um efeito tripanocida do benzonidazol a longo prazo em pacientes na fase crônica da DC. O tratamento etiológico da DC pode reduzir a progressão clínica da doença e fornecer melhor prognóstico para os pacientes, particularmente quando administrados na forma indeterminada da doença. Mais pesquisas são necessárias para explorar as potenciais fontes de heterogeneidade dos estudos e para conduzir uma análise confiável dos resultados.

Abstract

The American trypanosomiasis, known as Chagas' disease (CD), is the causative agent Trypanosoma cruzi *(*T. cruzi*). For practical purposes, treatment of DC requires a specific and symptomatic therapy, although there is disagreement about the cure rates in the etiological treatment of CD.* ***Objective:*** *To perform a systematic review of the literature evaluating the effectiveness of treatment during the chronic phase of CD.* ***Methods:*** *Systematic Review of the literature in databases: Medline, Lilacs, Cochrane and SciELO, to identify relevant studies using the keywords "Chagas disease AND treatment", "trypanossomiasis AND treatment", "Chagas disease benznidazole AND" and "trypanossomiasis AND benznidazole" that evaluated the articles published in the last 10 years. To assess the methodological quality of randomized controlled trials used the Jadad score and observational studies, the critical assessment instrument was the rating scale Newcastle-Ottawa.* ***Results:*** *We found 1.645 articles in different databases, four included for analysis (two randomized clinical trials and two case-control study).* ***Conclusion:*** *The results demonstrate that the etiological treatment of DC may benefit during the clinical progression of the disease and provide better prognosis for patients, particularly when administered in the indeterminate form of the disease.*

Keywords

Chagas disease; Trypanosoma cruzi; *Antiparasitic agents*

REFERÊNCIAS

1. Marin-Neto J Antonio, Rassi Jr Anis, Avezum Jr Alvaro, Mattos Antonio C, Rassi Anis. The BENEFIT trial: testing the hypothesis that trypanocidal therapy is beneficial for patients with chronic Chagas heart disease. Mem. Inst. Oswaldo Cruz [Internet]. 2009 Julho [cited 2015 Oct 20]; 104 (Suppl 1):319-24.
2. Dias JCP. Doença de Chagas, ambiente, participação e Estado. Cad Saúde. Pública. 2001;17:165-9.
3. Dias JCP. O tratamento específico da doença de Chagas [Internet]. 10ª Conferência nacional de saúde, 1999; Acesso em 2015 Mai 04. Disponível em: www.datasus.gov.br/ cns.
4. Conferência Nacional de Saúde Online. O tratamento específico da doença de chagas [Internet]. Acesso em 2015 Mai 14. Disponível em: http://www.datasus.gov.br/cns/ temas/tribuna/tratamento.htm.
5. Araújo MS, Martins-Filho OA, Pereira ME, Brener Z. A combination of benznidazole and ketoconazole enhances efficacy of chemotherapy of experimental Chagas' disease. J Antimicrob Chemother. 2000;45(6):819-24.
6. Ministério da Saúde (Brasil). Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. Rev Soc Bras Med Trop. 2005;38 (Supl III).
7. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria Nacional de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. 6a. ed. Brasília (DF); 2005.
8. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Controle da Doença de Chagas. Vigilância em saúde: doença de Chagas. Brasília, 2009. (Série A. Normas e Manuais Técnicos - Cadernos de Atenção Básica, n. 22). No prelo.
9. Ianni BR, Mady C. Terapêutica da forma crônica da Doença de Chagas. É eficaz o tratamento etiológico? Arq Bras Cardiol. 1998;70(1): 59-61.
10. Mulrow CD. Rationale for systematic reviews. BMJ. 1994;309 (6954):597-9.

11. Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, McQuay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? Control Clin Trials. 1996;17(1):1-12.
12. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for Assessing the Quality of Nonrandomized Studies in Meta-Analysis. [Acesso em: 2015, Jul 02]. Disponível em: http.www.iri.ca.
13. Bernardo WM. A revisão sistemática na prática clínica baseada em evidência. Femina. 2008;10:42:36.
14. Bertocchi GL, et al. Immunological Assessment of Benznidazole Therapy in Chronic Chagas Disease. Rev Argent Cardiol 76 (2008): 260-5.
15. Fernandes CD, Tiecher FM, Balbinot MM, Liarte DB, Scholl D, Steindel M, Romanha A. Efficacy of benznidazole treatment for asymptomatic chagasic patients from state of Rio Grande do Sul evaluated during a three years follow-up. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104(1):27-32.
16. Machado-de-Assis GF, Diniz GA, Montoya RA, Dias JC, Coura JR, Machado-Coelho GL, et al. A serological, parasitological and clinical evaluation of untreated Chagas disease patients and those treated with benznidazole before and thirteen years after intervention. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. 2013 Nov [cited 2015 Nov 03] ;108(7): 873-80.
17. Molina I, Gómez i Prat J, Salvador F, Treviño B, Sulleiro E, Serre N, et al. Randomized trial of posaconazole and benznidazole for chronic Chagas' disease. N Engl J Med. 2014;370(20):1899-908.
18. Reyes PA, Vallejo M. Trypanocidal drugs for late stage, symptomatic Chagas disease (Trypanosoma cruzi infection). Cochrane Database Syst Rev. 2005;(4):CD004102.
19. Viotti R, Vigliano C, Lococo B, Alvarez MG, Petti M, Bertocchi G, Armenti A. Side effects of benznidazole as treatment in chronic Chagas disease: fears and realities. Expert Rev Anti Infect Ther. 2009;7(2):157-63.
20. Gallerano RR, Sosa RR. Interventional study in the natural evolution of Chagas disease. Evaluation of specific antiparasitic treatment. Retrospective-prospective study of antiparasitic therapy. Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba. 2000;57(2):135-62. [Article in Spanish]
21. Fabbro DL, Streiger ML, Arias ED, Bizai ML, del Barco M, Amicone NA. Trypanocide treatment among adults with chronic Chagas disease living in Santa Fe city (Argentina), over a mean follow-up of 21 years: parasitological, serological and clinical evolution. Rev Soc Bras Med Trop 2007;40:1-10.
22. de Lana M, Lopes LA, Martins HR, Bahia MT, Machado-de-Assis GF, Wendling AP, et al. Clinical and laboratory status of patients with chronic Chagas disease living in a vector-controlled area in Minas Gerais, Brazil, before and nine years after aetiological treatment. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104:1139-47.
23. Amato Neto V. Terapêutica da forma crônica da doença de Chagas. Tratamento específico da infecção pelo Trypanosoma cruzi. Arq Bras Cardiol. 1998;70:63-4.
24. Braga MS, Lauria-Pires L, Argañaraz ER, Nascimento RJ, Teixeira AR. Persistent infections in chronic Chagas' disease patients treated with anti-Trypanosoma cruzi nitroderivatives. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2000;42:157-61.
25. Lauria-Pires L, Braga MS, Vexenat AC, Nitz N, Simões-Barbosa A, Tinoco DL, Teixeira AR. Progressive chronic Chagas heart disease ten years after treatment with anti-Trypanosoma cruzi nitroderivatives. Am J Trop Med Hyg. 2000;63(3-4):111-8.
26. Villar JC, Perez JG, Cortes OL, Riarte A, Pepper M, Marin-Neto JA, Guyatt GH. Trypanocidal drugs for chronic asymptomatic Trypanosoma cruzi infection. Cochrane Database Syst Rev. 2014;(5):CD003463.
27. Sosa Estani S, Segura EL, Ruiz AM, Velazquez E, Porcel BM, Yampotis C. Efficacy of chemotherapy with benznidazole in children in the indeterminate phase of Chagas' disease. Am J Trop Med Hyg. 1998;59(4):526-9.
28. de Andrade AL, Zicker F, de Oliveira RM, Almeida Silva S, Luquetti A, Travassos LR, et al. Randomised trial of efficacy of benznidazole in treatment of early Trypanosoma cruzi infection. Lancet. 1996; 348(9039):1407-13.
29. Viotti R, Vigliano C, Lococo B, Bertocchi G, Petti M, Alvarez MG, et al. Long-term cardiac outcomes of treating chronic Chagas disease with benznidazole versus no treatment: a nonrandomized trial. Ann Intern Med. 2006;144(10):724-34.
30. Coura JR, de Abreu LL, Willcox HP, Petana W. Comparative controlled study on the use of benznidazole, nifurtimox and placebo, in the chronic form of Chagas' disease, in a field area with interrupted transmission. I. Preliminary evaluation. Rev Soc Bras Med Trop. 1997;30(2):139-44. [Article in Portuguese]
31. de Castro AM, Luquetti AO, Rassi A, Chiari E, Galvão LM. Detection of parasitemia profiles by blood culture after treatment of human chronic Trypanosoma cruzi infection. Parasitol Res. 2006;99(4): 379-83.
32. Albareda MC, Laucella SA, Alvarez MG, Armenti AH, Bertochi G, Tarleton RL, Postan M. Trypanosoma cruzi modulates the profile of memory CD8+ T cells in chronic Chagas' disease patients. Int Immunol. 2006;18(3):465-71.
33. Di Noia JM, Buscaglia CA, Marchi CR, Almeida IC, Frasch AC. A Trypanosoma cruzi small surface molecule provides the first immunological evidence that Chagas' disease is due to single parasite lineage. J Exp Med. 2002;195(4):401-13.
34. Buscaglia CA, Di Noia J. Trypanosoma cruzi clonal diversity and the epidemiology of Chagas' disease. Microb Infec. 2003;5:419-27.
35. Britto C, Silveira C, Cardoso MA, Marques P, Luquetti A, Macêdo V, Fernandes O. Parasite persistence in treated chagasic patients revealed by xenodiagnosis and polymerase chain reaction. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001;96(6):823-6.
36. Viotti R, Vigliano C, Álvarez MG, Lococo B, Petti M, Bertocchi G, et al. Impact of aetiological treatment on conventional and multiplex serology in chronic Chagas disease. PLoS Negl Trop Dis. 2011; 5(9):e1314
37. Pérez-Molina JA, Pérez-Ayala A, Moreno S, Fernández-González MC, Zamora J, López-Velez R. Use of benznidazole to treat chronic Chagas' disease: a systematic review with a meta-analysis. J Antimicrob Chemother 2009;64(6):1139-47.

Correspondência
Ana Luisa Oenning Martins
Universidade do Sul de Santa Catarina
Avenida José Acácio Moreira, 787, Dehon
88704-900 – Tubarão-SC, Brasil

Técnicas de recomposição de componentes do sangue para fins terapêuticos

Techniques for restoring blood components for therapeutic purposes

Karine Watanabe Oliveira Rocha

Resumo
O uso de técnicas de recomposição de componentes do sangue para fins terapêuticos sem a necessidade de transfusão de sangue apresenta uma grande perspectiva de desenvolvimento futuro. A preocupação com a redução das necessidades de transfusão de sangue e derivados nos períodos trans e pós-operatórios sempre existiu devido à incidência de complicações correlatas às transfusões, principalmente com o risco de transmissão de doenças, como a AIDS, hepatite, malária e doença de Chagas. Todas as medidas que possam ser usadas para que haja a redução do volume de sangue transfundido são válidas, por isso esse artigo tem como objetivo identificar as estratégias clínicas existentes e assim foram analisados todos os métodos e alternativas disponíveis, como o uso da eritropoetina recombinante humana (rhEPO), a doação autóloga, uso de hemoderivados e as soluções carreadoras de oxigênio. Para o século XXI, haverá grandes mudanças em relação às estratégias clínicas com um grande foco no aperfeiçoamento da segurança e aumento de produtos hemoderivados.

Palavras-chave
Eritropoetina; Transfusão de sangue autóloga; Medicamentos hemoderivados

INTRODUÇÃO

A preocupação com a redução das necessidades de transfusão de sangue e derivados nos períodos trans e pós-operatórios sempre existiu devido à incidência de complicações correlatas às transfusões, como reações febris, isoimunizações, hepatite, malária, doença de Chagas e outras doenças infecciosas, tendo-se acentuado com o surgimento de casos de síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) por transmissão transfusional.[1]

As estratégias clínicas combinadas com outras modalidades são usadas com sucesso em tratamentos de pacientes sem a necessidade de transfusão de sangue, pois existem procedimentos alternativos para este tipo de tratamento médico.

O objetivo desse estudo é identificar as estratégias clínicas existentes que estão sendo utilizadas mais recentemente na área da medicina.

O primeiro teste que fez uso da eritropoetina recombinante humana (rhEPO) foi realizado em 1987 com adultos portadores de doença renal terminal. Nestes pacientes, que eram submetidos a hemodiálise, foi eliminada a necessidade de transfusão e houve melhora da qualidade de vida. A velocidade de resposta do hematócrito foi dose dependente, tornando-se estável após uma semana de administração. Outro efeito benéfico encontrado foi a redução da sobrecarga de ferro acarretado pela politransfusão.[2]

Dentre os efeitos colaterais encontrados, citam-se: deficiência de ferro devido ao seu gasto acelerado, podendo levar a anemia rebote, hipertensão arterial, convulsões, hipercalemia e hiperfosfatemia.

Em 1989, a National Kidney Foundation recomendou o uso rotineiro da rhEPO no tratamento da anemia devido à doença renal crônica, com a ressalva da necessidade de se monitorizar os níveis de ferro séricos e fazer uma suplementação adequada.[2]

Além da anemia da prematuridade, outras indicações para o uso da rhEPO são descritas, onde ocorre a anemia devido ao baixo nível da EPO sérica, como: artrite reumatoide, colite ulcerativa, AIDS, doenças malignas, cardiopatias congênitas com possibilidade de desenvolver insuficiência cardíaca.

[1]*Bióloga pela Universidade Estadual Norte Fluminense; Especialista em Análises Clínicas pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas Rio de Janeiro-RJ, Brasil.*

Instituição: Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

Artigo recebido em 30/12/2015
Artigo aprovado em 11/05/2016
DOI: 10.21877/2448-3877.201600451

A transfusão autóloga não é um conceito novo. O termo reinfusão de sangue perdido já foi utilizado em 1818 e a doação pré-operatória de sangue autólogo foi defendida nos anos 30, quando surgiram os primeiros Bancos de Sangue. Entretanto, um aumento considerável no uso de transfusão autóloga tem ocorrido nos últimos vinte anos.[3]

As vantagens da transfusão autóloga são de prevenir: a transmissão de doenças infecciosas, as reações transfusionais, a aloimunização e a imunomodulação. São essenciais para pacientes que apresentam tipo sanguíneo raro e para pacientes poli-imunizados.[4] De acordo com a Tabela 1 são apresentadas algumas patologias e seus respectivos riscos transfusionais.

Tabela 1 - Risco transfusional na transmissão de algumas patologias

Patologia	Risco	Teste positivo (dias)
Hepatite B	1/63.000	60
Hepatite C	1/103.000	82
HIV	1/493.000	22
HTLV	1/641.000	51
Citomegalovírus	Menos de 1%	Rapidamente

Fonte: Vane e Ganem, 2006, p.297

O sangue autólogo não transmite doenças, entretanto pode sofrer contaminação durante seu manuseio entre a coleta no hemocentro e sua administração no centro cirúrgico,[4] mas o risco ainda é menor quando comparado ao sangue homólogo.[5]

As principais indicações da transfusão de crioprecipitado (CRIO), que é um tipo de hemoderivado, são no tratamento da hemofilia A, doença de von Willebrand, deficiência de fibrinogênio congênita ou adquirida, deficiência de Fator XIII e complicações obstétricas ou outras situações associadas com o consumo de fibrinogênio. Seu uso também é benéfico no tratamento da tendência hemorrágica associada a uremia.

O CRIO não deve ser utilizado no tratamento de pacientes com deficiências de outros fatores que não os já citados. Existe o risco de transmissão de doenças infecciosas, para cada unidade de CRIO e, quando altas quantidades de CRIO são transfundidas, o nível de fibrinogênio do indivíduo deve ser monitorizado, pois este pode atingir níveis bastante elevados (hiperfibrinogenemia), levando a um risco aumentado de tromboembolismo.[6]

As soluções de hemoglobina têm sido usadas como *cross-linked* (CL), polimerização e conjugação, tendo sido submetidas a procedimentos químicos ou de engenharia genética.[4] Todos esses avanços são feitos para prevenir complicações como dano renal, hipertensão pulmonar, formação de metahemoglobina, entre outras.

Apesar dos intensos estudos, este tipo de solução ainda não mostrou grande eficácia, devendo ser motivo de estudo para os próximos anos, tendo em vista sua necessidade. Hoje, a quantidade de sangue necessária não é acompanhada pelo volume obtido com doações e, nas próximas décadas, isto tende a se acentuar.

A tentativa de se obter uma solução que, além de expandir o volume intravascular, pudesse também transportar oxigênio e liberá-lo para os tecidos remonta à Primeira Guerra Mundial, quando ficou claro que a hipovolemia por hemorragia aguda e intensa levava o paciente ao chamado choque circulatório. Apesar disso, o marco inicial deste estudo foi em 1930, com o uso de hemoglobina bovina e de hemoglobina humana em solução salina. Este estudo teve por finalidade o tratamento do sangramento obstétrico com hemoglobina humana em solução salina, o que prontamente restaurava a pressão arterial, mas apresentava efeitos colaterais graves, como disfunção renal e hipertensão arterial.[4]

A partir de 1980, com o advento da AIDS, esses estudos ganharam novo interesse e os estudos no campo molecular se intensificaram. Hoje, alguns produtos já estão em testes em seres humanos, principalmente a hemoglobina livre de estroma.

REVISÃO DE LITERATURA

De acordo com Vane e Ganem,[4] o sangue é um dos componentes mais importantes no organismo pois desempenha diversas funções, como a oxigenação, proteção imunológica, hemostasia e equilíbrio ácido-base. Existem muitas situações, como trauma, cirurgias e pacientes críticos, nas quais ocorre grande perda sanguínea, por isso é importante que haja estratégias clínicas para o tratamento desses pacientes.

A partir da década de 80, com o advento da AIDS, houve uma preocupação em se realizarem estudos que pudessem minimizar a quantidade de transfusão de sangue. Assim, métodos já conhecidos e mais recentes têm sido utilizados e aprimorados para que haja uma melhora eficiente nos casos em que há necessidade de reposição de sangue ou seus componentes.

Para se atingir o objetivo dessa pesquisa foi feito um estudo das técnicas existentes. Segundo Rocco et al.[7] as transfusões sanguíneas podem ser substituídas utilizando-se métodos alternativos. Podem ser utilizadas técnicas de cirurgia sem sangue, preparo pré-operatório (uso de eritropoietina e doação autóloga), uso de técnicas cirúrgicas e anestésicas, de máquinas para reaproveitar o sangue (*cell saver*) hemodiluição pré-operatória, diminuição do desperdício da coleta de sangue com uso de tubos pediátricos e reaproveitamento de sangue retirado do cateter de pressão arterial média. Existem ainda as alternativas ao uso de hemoderivados, citando-se os carreadores artificiais do oxigênio.

MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia utilizada nesse estudo envolveu a análise de técnicas existentes, pois todas as medidas que possam ser usadas para que haja a redução do volume de sangue transfundido são válidas. Este artigo está classificado, quanto aos fins, como exploratório, onde serão apresentados os conhecimentos a respeito das técnicas disponíveis. Para isso foi usada pesquisa bibliográfica como meio em relação às técnicas de recomposição de componentes do sangue para fins terapêuticos. A pesquisa bibliográfica tem como fonte artigos científicos, livros e periódicos.

Eritropoietina

A eritropoietina (EPO) é um hormônio endógeno de natureza glicoproteica secretado pelos rins e é o principal regulador da eritropoiese ou a produção de células vermelhas do sangue. No indivíduo normal, 90% de toda a eritropoetina é produzida pelo rim, e os 10% restantes pelo fígado.[8] O uso da eritropoetina recombinante humana (rhEPO) é capaz de estimular a medula, aumentando a sua eritropoiese e, consequentemente, o número de células vermelhas circulantes. Ela é muito utilizada em tratamento de anemia, principalmente, em recém-natos, onde a eritropoiese não consegue responder à necessidade do organismo[2] e também em pacientes com insuficiência renal, que passam a necessitar do suporte da hemodiálise, pois sofrem com a baixa produção de eritropoietina.[8]

Adesivos teciduais

A cola de fibrina é utilizada para diminuir a perda de sangue selando as superfícies das feridas de modo a reduzir o sangramento pós-operatório.[5]

O plasma rico em plaquetas (PRP) também é utilizado para reduzir hemorragia. Ele é obtido através de centrifugação do sangue do próprio paciente, obtendo um produto final concentrado em plaquetas, rico em fatores de crescimento envolvidos no processo de cicatrização tecidual.[9] Essa solução é aplicada nos locais de cirurgia ou ferimentos.

Doação autóloga

É aquela em que o binômio receptor/doador é constituído pelo mesmo indivíduo.[10] Devido aos riscos que existem na doação homóloga, muita importância se deu à doação autóloga. O sangue autólogo pode ser obtido por doações prévias (DP), por hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) ou por reaproveitamento de sangue do campo operatório, também conhecido por *blood saved* (BS). Não há ocorrência de reações hemolíticas (aloimunização), alérgicas, imunológicas (imunomodulação) e lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão (TRALI).[4]

Pré-doação

A técnica consiste na doação de sangue para uso próprio. É obtido no período pré-operatório durante quatro a seis semanas. Se o paciente apresentar-se com anemia para cirurgia, serão necessárias transfusões mais frequentes e com antecedência; e outro ponto a ser considerado é a possibilidade de troca de bolsa. Segundo estatística, essa possibilidade ocorre em uma a cada 60 a 100 mil transfusões, e é alto o custo do descarte das bolsas não utilizadas.[4]

Hemodiluição normovolêmica aguda (HNA)

Essa técnica reduz a perda de sangue e consiste na substituição do sangue total por uma solução semelhante ao plasma com cristaloides e/ou coloides, livre de células, induzindo uma diluição de todos os seus componentes.[11] Essa solução funciona como um expansor de volume que não contém sangue; assim, o sangue que ainda resta no paciente é diluído contendo menos glóbulos vermelhos. Durante a cirurgia, o sangue é desviado para bolsas e devolvido ao paciente durante e/ou ao término da cirurgia. Essa técnica é eficaz em procedimentos cirúrgicos com perdas de sangue previstas superiores a 1000 mL.[12] No caso de uma grande perda sanguínea durante a cirurgia, o paciente hemodiluído perderá menos quantidade de glóbulos vermelhos.

Reaproveitamento do sangue

Essa técnica reaproveita o sangue coletado. Este sangue é aspirado, filtrado e processado e os glóbulos vermelhos, obtidos por centrifugação, são reinfundidos na medida da necessidade.[4]

Recuperação intraoperatória de sangue

A técnica de recuperação intraoperatória (RIOS) consiste na recuperação do sangue de ferimentos ou de uma cavidade do corpo durante a cirurgia. O sangue coletado no campo cirúrgico é recuperado, processado em equipamentos específicos e reinfundido durante a cirurgia se houver necessidade. O material aspirado é filtrado, a seguir centrifugado e as hemácias são lavadas com soro fisiológico. Esta técnica é indicada para cirurgias quando a perda de sangue esperada é superior a 20% do volume de sangue total.[12]

Hemoderivados

São medicamentos derivados do sangue, mais especificamente do plasma contido no sangue, e servem para o tratamento de doenças graves[13] conforme se segue:

Albumina

É uma proteína extraída do plasma. É utilizada, às vezes, em expansores de volume no tratamento de choque, queimaduras graves, pessoas com cirrose e pacientes de terapia intensiva.

Imunoglobulinas

Hemoderivado de maior consumo no mundo, empregado no tratamento de pessoas com AIDS e outras deficiências imunológicas, além de doenças autoimunes e infecciosas.[13]

Fatores de coagulação

Há várias proteínas que atuam na coagulação sanguínea. São administradas para o tratamento de alguns casos de hemofilia A e B e de pacientes com sangramento devido à cirrose hepática. Também pode ser usada no processo de recuperação de pessoas que utilizam medicamentos anticoagulantes e apresentam hemorragias.[13]

O crioprecipitado é uma combinação de fatores de coagulação. Contém o Fator VIII, Fibrinogênio, Fator de Von Willebrand, Fator XIII e Fibronectina.

Soluções carreadoras de oxigênio

O termo substituto do sangue ou sangue artificial tem sido utilizado para descrever soluções que promovem expansão de volume e transportem oxigênio. Porém, o sangue, um dos mais complexos líquidos do organismo, tem muitas outras funções, além das duas funções destinadas aos chamados substitutos do sangue. Desta forma, esses termos devem ser substituídos por solução expansora carreadora de oxigênio.[4]

Basicamente, estes produtos são:

1- hemoglobinas livres de estroma – contêm algumas modificações na molécula da hemoglobina;

2- *hemoglobinas geneticamente modificadas* – células vermelhas produzidas por microorganismo como *E. coli*;

3- *hemoglobinas lipossoma-encapsuladas* – contêm hemoglobina com membrana sintética;

4- *perfluorocarbono* – soluções orgânicas com alta solubilidade em oxigênio.

Soluções de Hemoglobina

A solução de hemoglobina é uma solução que transporta e libera oxigênio para os tecidos. As soluções de hemoglobina livre de estroma podem-se apresentar sob quatro formas e todas elas contêm moléculas de hemoglobina modificada. São elas:

1- *hemoglobina cross-linked*
2- *hemoglobina polimerizada*
3- *hemoglobina conjugada*
4- *hemoglobina em microbolhas*

Estas modificações e seus diversos tipos são tentativas para que haja menor filtração renal e, como consequência, menor dano para os rins e maior tempo de retenção intravascular.

Perfluorocarbonos

Perfluorocarbonos (PFC) são compostos sintéticos que atuam como solventes para moléculas de oxigênio. Duas gerações de PFC foram desenvolvidas: a primeira, constituída pelo Fluosol-DA 20%, que é utilizado para casos de isquemia tecidual, e a segunda geração, o Perfubron, é mais eficiente que a primeira geração no transporte de oxigênio, sendo utilizado na preservação de órgãos.[4]

DISCUSSÃO

Há muitos tratamentos alternativos a transfusões de sangue que visam melhorar a qualidade de vida do paciente, e para isso novos estudos estão sendo feitos acerca do assunto. O estímulo principal para o crescimento desses estudos é o receio das possíveis doenças transmissíveis, destacando-se a AIDS, doença de Chagas e hepatite C, principalmente.

Cada tipo de tratamento tem suas vantagens, porém há suas desvantagens. Para isso, cada caso e o melhor tratamento que deve ser utilizado devem ser estudados criteriosamente para que não haja nenhuma complicação futura, como a aquisição de doenças transmissíveis, reações transfusionais (hemolíticas ou não) que podem ser graves, sensibilização imunológica, falha terapêutica, aumento no custo do tratamento e ansiedade gerada no paciente e nos familiares envolvidos. Acrescenta-se, ainda, o desperdício de um material nobre e ao elevado custo na adequação do mesmo para fins terapêuticos.[6]

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os métodos e as alternativas existentes que evitam a necessidade de repor sangue são atividades complementares que constituem a área clínica da Medicina Transfusional. Recentes avanços na segurança, qualidade e os custos associados com essa terapia alternativa têm levado a uma reavaliação da prática desta área da medicina.

Tudo indica que, no século XXI, os métodos e as alternativas para o tratamento médico sem a necessidade de transfusão de sangue sofrerá grandes mudanças. Haverá um grande foco no aperfeiçoamento da segurança e aumento de produtos hemoderivados.

Abstract

The use of techniques of restoration of blood constituents for therapeutic purposes without the need for blood transfusion presents a great prospect for future development. The concern with reducing the need for blood transfusion and derivatives in trans-and post-operative has always existed due to the incidence of complications related to transfusions, especially with the risk of transmission of diseases such as AIDS, hepatitis, malaria and Chagas illness. All measures that may be used so that there is a reduction in the volume of blood transfused are valid, so this article aims to identify existing clinical strategies and so all methods and alternatives, such as the use of recombinant human erythropoietin (rhEPO), were analyzed autologous donation, blood transfusion and oxygen-carrying solutions. For the twenty-first century, there will be major changes in relation to clinical strategies with a major focus on improving safety and increasing blood products.

Keywords

Erythropoietin; Autologous blood transfusion; Hemoderivative drugs

REFERÊNCIAS

1. Galantier M, Bub RF, Ghiotto JL, Trindade RB, Silveira ES, Hamerschlak N, et al. Reaproveitamento do sangue em cirurgia com circulação extracorpórea: utilização de processadora por fluxo descontínuo. Rev Bras Cir Cardiovasc. 1987;2(1):70-4.
2. Chia CY, Leone CR. Eritropoetina Recombinante Humana na Anemia da Prematuridade. São Paulo: Pediatria. 1995;17(4):174-90.
3. Macuco MV, Carrenho JMX, Zambonato JF. Efeito imediato da hemodiluição normovolêmica aguda pré-operatória sobre o hematócrito em pacientes adultos. Rev Bras. Anestesiol. 1998;48 (6):475-84.
4. Vane LA, Ganem EM. Doação homóloga versus autóloga e substitutos da hemoglobina. In: Cavalcanti IL, Cantinho FAF, Assad AR, editors. Medicina perioperatória. Rio de Janeiro: Sociedade de Anestesiologia do Estado do Rio de Janeiro; 2006. p. 291-306.
5. Barros LF, Silva JEP. Complexidade na transfusão de sangue, riscos e alternativas de substituição. [Dissertação]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2005.
6. Razouk FH, Reiche EMV. Caracterização, produção e indicação clínica dos principais Hemocomponentes. Rev bras hematol hemoter. 2004;26(2):126-34.
7. Rocco JR, Soares M, Espinoza RA. Transfusão de Sangue em Terapia Intensiva: Um Estudo Epidemiológico Observacional. RBTI. 2006;18(3):242-50.
8. Ozawa CM, Sakabe D, Bertolli E, Mantovani LFAL, Chade MC, Gozzano JOA. Tratamento da anemia com eritropoetina recombinante humana em pacientes hemodialisados. Rev Fac Ciênc Méd Sorocaba. 2002;4(2):31-7.
9. Scaranto MK. Plasma rico em plaquetas. [Monografia]. Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina; 2002.
10. Secretaria da saúde [homepage na Internet]. Transfusão de hemocomponentes e hemoderivados [acesso em 5 maio 2014]. Disponível em: http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/sangue hemoderivados/transfusaodehemocomponentese hemoderivados.doc.
11. Pacheco Jr AM, Frey L, Messmer K. Hemodiluição Isovolêmica Pré-Operatória. Acta Cir. Bras. 1993;8(1):35-40.
12. Laranjeira H, Fernandes N, Ferreira R, Borges L. Recuperação pós-operatória de sangue como alternativa à transfusão homóloga na artroplastia total do joelho e na artroplastia total da anca. Revista SPA. 2012;21(5):8-17.
13. Hemobrás [homepage na Internet]. Produtos hemoderivados [acesso em 5 maio 2014]. Disponível emhttp://www.hemobras.gov.br/site/conteudo/ph.asp.

Correspondência
Karine Watanabe Oliveira Rocha
Rua Vicente Licínio, 99 – Tijuca
20270-902 – Rio de Janeiro-RJ, Brasil

Imunoterapia específica para o tratamento de alergias respiratórias: uma revisão sobre seu uso

Specific immunotherapy for the respiratory allergy treatment: a review of its use

Tamine Jandrey da Rosa

Resumo
A imunoterapia específica vem, há mais de 100 anos, sendo utilizada para o tratamento de alergias respiratórias, as quais têm crescente ocorrência no mundo todo e atualmente atingem aproximadamente 40% da população mundial, acarretando prejuízos à qualidade de vida da pessoa portadora destas afecções. Essa terapia visa reduzir a sensibilização do indivíduo a determinados alérgenos e tem se mostrado eficaz em longo prazo. Neste âmbito, o presente artigo realiza uma revisão na literatura científica sobre o tema, buscando discutir a eficácia clínica da imunoterapia específica, bem como a revisão de seu mecanismo de ação, indicações e contraindicações, extratos de alérgenos e vias de administração.

Palavras-chave
Imunoterapia; Hipersensibilidade; Asma; Rinite; Alérgenos

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (2013), aproximadamente 35% da população mundial sofre de doenças alérgicas respiratórias, sendo que 235 milhões de indivíduos sofrem de asma e 400 milhões são afetados anualmente por rinite alérgica, fator de risco para a asma.

As alergias respiratórias, que clinicamente compreendem asma e rinite, caracterizam-se por uma reação de hipersensibilidade tipo 1, pois resultam da interação de alérgenos ambientais com anticorpos IgE específicos, e manifestam-se clinicamente logo após o contato com o alérgeno. São doenças multifatoriais causadas pela interação de fatores genéticos e exposição a fatores ambientais, nas quais o processo inflamatório é considerado atualmente o principal evento fisiopatológico.[1]

A rinite é definida como uma inflamação da mucosa de revestimento nasal, caracterizada pela presença de um ou mais dos seguintes sintomas: congestão nasal, rinorreia, espirros, prurido e hiposmia.[2] Segundo o Ministério da Saúde,[3] a rinite pode ser considerada a doença de maior prevalência entre as doenças respiratórias, problema global de saúde pública, acometendo cerca de 20% a 25% da população em geral. Ela afeta a qualidade de vida das pessoas, interferindo no período produtivo, podendo causar prejuízos pelo absenteísmo ao trabalho e à escola.

A prevalência crescente da rinite alérgica em todo o mundo, designada pelo seu papel como um fator de risco para a asma, segundo a classificação ARIA (*Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma)*, seu impacto na qualidade de vida do indivíduo e seu elevado custo social apontam para a necessidade de melhores opções para a abordagem terapêutica desta doença.[4]

A asma é uma doença respiratória crônica, caracterizada por inflamação das vias aéreas, obstrução ao fluxo de ar e hiperresponsividade brônquica, levando a episódios recorrentes de sibilância, dispneia, aperto no peito e tosse.[1] A asma constitui um dos mais importantes problemas de saúde no mundo, e no Brasil compromete 10% a 20% da população, sendo responsável, anualmente, por cerca de 2 mil óbitos e 350 mil internações hospitalares.[5]

Um grande número de estudos demonstra que rinite e asma são enfermidades frequentemente associadas. Cerca de 19% a 38% dos pacientes com rinite alérgica podem ter asma.[6]

O mecanismo imunológico envolvido nas alergias respiratórias é mediado por anticorpos da classe IgE e o principal fator agravante ou precipitante das crises são os alérgenos ambientais; dentre estes, podem ser citados como os mais frequentes a poeira doméstica, ácaros, fungos, epitélio de animais, barata e pólen.[2]

Biomédica. Universidade Feevale – Nova Hamburgo, RS, Brasil.

Instituição: Universidade Feevale – Nova Hamburgo, RS, Brasil.

Artigo recebido em 27/03/2015
Artigo aprovado em 04/04/2016
DOI: 10.21877/2448-3877.201600381

Devido ao elevado índice de alergias respiratórias em todo o mundo, o presente artigo de revisão trata de apresentar a imunoterapia específica discutindo sua eficácia clínica no tratamento destas afecções.

MATERIAL E MÉTODOS

O artigo foi construído a partir de uma pesquisa exploratória da literatura com estratégia de busca definida, onde foi feito um levantamento bibliográfico de artigos científicos utilizando-se os descritores imunoterapia, alergias respiratórias, alérgenos, asma e rinite, em conformidade com o DeCS (Descritores em Ciências da Saúde).

A revisão da bibliografia foi realizada utilizando-se as bases de dados da Biblioteca Virtual em Medicina (Medline, Scielo, Lilacs e Cochrane), considerando os estudos publicados nos idiomas Inglês e Português nos últimos 18 anos (de 1995 a 2013).

Do total de citações encontradas, foram selecionadas 34 referências, utilizando-se como critério a ênfase na abordagem da imunoterapia específica para o tratamento de alergias respiratórias. Os artigos foram revisados e as informações organizadas em diferentes seções: Imunoterapia específica; Extratos de alérgenos; Vias de administração; Indicações e contraindicações; Eficácia clínica da imunoterapia.

IMUNOTERAPIA ESPECÍFICA

A Imunoterapia específica para tratamento de doenças alérgicas respiratórias foi introduzida na Inglaterra pelos pesquisadores Leonard Noon e John Freeman, que, em 1911, publicaram seus trabalhos sobre o tema. Os pesquisadores injetaram doses crescentes de extratos de pólens em pacientes acometidos de "Febre do Feno" e observaram uma acentuada queda dos sintomas clínicos de que tais pacientes eram acometidos (rinorreia, prurido nasal, espirros). A mesma diminuição da frequência sintomática foi observada também em pacientes com história pregressa de broncoespasmo.[7,8] Esta medida terapêutica tem sido desenvolvida desde então e atualmente encontra-se difundida por todo o mundo para o melhor tratamento de rinite e asma alérgicas.[6] Na época do início deste experimento, a compreensão dos mecanismos de sua ação resumia-se ao conceito no qual a injeção das "toxinas" contidas nos extratos de pólens responsáveis pelos sintomas causavam a produção, pelo organismo, de "antitoxinas", substâncias endógenas que neutralizariam a ação das primeiras.[9]

A imunoterapia específica é definida como o tratamento de doenças alérgicas, realizado com base em uma vacina de alérgenos, os mesmos que causam a alergia em questão. Esta, por sua vez, eleva a imunidade do indivíduo para que este apresente menos sensibilidade a certas substâncias.[10] Esta técnica de dessensibilização está indicada em casos especiais nos quais o paciente não consegue evitar exposição aos alérgenos e em situações em que não haja resposta adequada ao tratamento farmacológico.[11]

Esse tratamento imunoterápico é eficaz para a profilaxia de doença mediada por IgE atópica, que visa reduzir o grau de sensibilização (nível de anticorpos IgE) e a reação nos tecidos do indivíduo ao alérgeno, impedindo reações alérgicas imediatas graves. Também interfere na inflamação característica das condições alérgicas de longa evolução, apresentando especial utilidade no tratamento de rinite e asma,[9] sendo ainda indicada para pacientes que desenvolvem anafilaxia devido ao veneno de picadas de insetos.

A terapia fundamenta-se na administração de diversas doses, gradativas e cada vez mais concentradas, de extratos de alérgenos, aplicadas em intervalos regulares durante um longo período, que pode variar de um a cinco anos, até encontrar a tolerância clínica desses causadores de alergias em pacientes hipersensíveis, de forma a reduzir a sintomatologia após a exposição a determinado alérgeno.[10,12,13]

A duração do tratamento foi definida a partir de estudos com imunoterapia injetável, que demonstraram o tempo necessário para ocorrerem as alterações imunológicas responsáveis pelos seus efeitos, em geral nos primeiros três meses (fase inicial), o tempo de uso e as alterações clínicas significativas, com redução de sintomas, de uso de medicamentos e melhora na qualidade de vida e o tempo necessário de tratamento para que os efeitos alcançados sejam duradouros, mesmo após a sua suspensão, que é de três a cinco anos com dosagens de manutenção.[9]

Na fase inicial ou de indução, administram-se pequenas doses do alérgeno, aumentadas progressivamente, com base na sensibilidade individual de cada paciente, uma a duas vezes por semana, até atingir a dose de manutenção em aproximadamente três meses. A manutenção consiste em aplicações das doses de reforço com intervalo que pode variar de duas a seis semanas por um período de três a cinco anos, na dependência da relação dose resposta.[14]

A imunoterapia específica atua no sistema imune e conduz a um estado de tolerância a determinados alérgenos, reduzindo a necessidade do uso de fármacos controladores da doença e da sintomatologia a longo prazo.[15]

Apesar de todos os avanços na compreensão da imunopatogenia e fisiopatologia das doenças alérgicas respiratórias e do desenvolvimento de drogas eficazes para o controle da inflamação da via aérea e dos sintomas a ela associados, até a atualidade, a imunoterapia ainda é, junto com as medidas de higiene ambiental, a única estratégia terapêutica capaz de modificar a evolução natural da

doença alérgica ao induzir a sua melhora e até mesmo a remissão e ao prevenir o seu agravamento, assim como o surgimento de novas sensibilizações, com efeitos duradouros mesmo após a sua suspensão.[9]

Uma das principais barreiras para o sucesso do tratamento com a imunoterapia é o fato de que, normalmente, os pacientes hipersensíveis costumam ser alérgicos a mais de um tipo de substância, dificultando, assim, a identificação do alérgeno candidato à vacina.[13]

Desde a primeira utilização da imunoterapia no início do século 20, uma grande quantidade de ensaios clínicos foi realizada e publicada, a maioria sendo controlada com placebo. Estes ensaios, baseados em evidências após o tratamento com imunoterapia específica, trouxeram conhecimentos sobre os mecanismos de ação, de eficácia e de segurança. Foram descobertas indicações clínicas e contraindicações da aplicação e as regras necessárias para melhorar a relação risco/benefício do tratamento. Estas regras foram transmitidas em diretrizes internacionais.[15]

MECANISMO DE AÇÃO DA IMUNOTERAPIA ESPECÍFICA

As alergias respiratórias têm na sua origem molecular a ativação de elementos-chave, como células apresentadoras de antígenos, linfócitos T e B e mediadores inflamatórios (histamina, prostaglandinas e leucotrienos, entre outros). É onde ocorre a ativação do mecanismo pró-inflamatório que atua na imunoterapia específica.[16]

Uma das primeiras modificações imunológicas identificadas e correlacionadas com a ação da imunoterapia específica é o aumento progressivo da produção de anticorpos alérgeno-específicos da classe IgG (subclasses IgG1 e, principalmente, IgG4),[17] com atividade bloqueadora para os alérgenos, em paralelo à redução da produção de IgE alérgeno-específica.[18] Estes anticorpos IgG, em grande quantidade no sangue e em outros compartimentos do organismo, como no interstício das submucosas, se ligam ao alérgeno, impedindo que este se ligue à IgE nas superfícies de mastócitos e basófilos. Dessa forma, limitam a libertação de mediadores inflamatórios, como a histamina, por basófilos ativados, evitando o início da cascata de fenômenos característicos das respostas mediadas pela IgE.[9,15,19]

Outra ação dos anticorpos bloqueadores é prevenir a ligação do alérgeno a complexos IgE-receptores de baixa afinidade na superfície de células B, diminuindo a capacidade destas células apresentarem o alérgeno a células T específicas através do bloqueio dos alérgenos pela IgG4 antes de sua ligação à IgE nessas células B.[9,15]

Outras modificações importantes induzidas pela imunoterapia e descritas precocemente foram a redução da reatividade de mastócitos e basófilos ao alérgeno, decorrente da menor expressão de receptores para IgE em suas membranas, e o aumento da concentração de IgA nas mucosas, o que colabora para melhorar a defesa contra patógenos e diminuir o risco de infecções no trato respiratório, um fator importante no desencadeamento de sintomas, principalmente na asma.[9]

Estudos realizados demonstraram que o desvio do perfil Th2 para Th1 constitui a base de atuação da imunoterapia específica. Verificou-se que, após meses/anos de terapia alérgeno-específica, ocorre um aumento dos níveis séricos de IL-2, IL-12 e INF-γ, promovendo atividade anti-inflamatória, enquanto que a redução da liberação de IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13 diminui a atividade pró-inflamatória.[20]

Enquanto a exposição precoce e natural a pequenas quantidades de alérgenos, em indivíduos geneticamente predispostos (atópicos), induz a diferenciação e expansão de células Th2, produtoras de IL-4, IL-5 e IL-13, após a apresentação antigênica, a administração de doses relativamente grandes de alérgenos aos indivíduos atópicos previamente sensibilizados durante a imunoterapia leva à diferenciação e expansão de subpopulações de células Th1, produtoras de IFN-γ, e de células T reguladoras (Treg), produtoras de IL-10 e TGF-β. A IL-10 aumenta a produção de IgG4 alérgeno-específica, além de reduzir a produção de IL-5 por células Th2, e o TGF-β estimula a produção de IgA. Além disso, as próprias células apresentadoras de antígenos passam a produzir IL-12, o que aumenta o estímulo à diferenciação Th1, e não Th2, durante a fase inicial de diferenciação do linfócito T virgem, na ocasião da apresentação antigênica.[9]

A ativação de células Treg encontra-se dependente da atividade de citocinas imunorreguladoras IL-10 e TGF-β.[7,19] As células Treg têm a função de conservar a homeostasia do sistema imunitário. Agem inibindo a apresentação do alérgeno às células T alérgeno-específicas, normalizando assim a resposta imune.[20] São células que se encontram diminuídas nos indivíduos atópicos.[21,22]

Desta forma, a imunoterapia específica com alérgenos induz, a partir do estímulo, a expansão de clones de células Treg, a supressão das subpopulações Th2 alérgeno-específicas, responsáveis pelo estímulo continuado à produção de IgE, via IL-4 e IL-13, e a ativação de eosinófilos via IL-5, além de promover, através da IL-10, os clones de células B alérgeno-específicas, que passam a produzir mais IgG4 e menos IgE. A consequente redução dos níveis de IgE, por mecanismo de autorregulação, induz progressivamente a menor expressão de receptores para IgE nos mastócitos e basófilos, reduzindo adicionalmente a capacidade de degranulação destas células.[9]

A indução de apoptose é outro dos mecanismos através dos quais atua a imunoterapia específica. Esse conceito foi introduzido após estudos que comprovaram que a

imunoterapia torna as células T produtoras de IL-4 (Th2) susceptíveis à apoptose após exposição ao alérgeno.[7]

Em estudos realizados sobre os níveis séricos de citocinas em indivíduos atópicos, verificou-se que, antes de iniciar a terapia, os níveis de IL-1β e TNF-α encontravam-se acima do normal. Após seis meses de tratamento, estas citocinas apresentavam valores dentro da normalidade para indivíduos não atópicos, enquanto que os níveis séricos de IL-2 e IL-6 tinham aumentado após o início da terapia. Estes dados demonstram uma clara redução na resposta inflamatória.[23]

A imunoterapia específica atua também na diminuição de basófilos, eosinófilos e mastócitos nos locais inflamatórios; portanto, reduz a liberação de mediadores inflamatórios, diminuindo assim a resposta inflamatória; logo, ausência de reação alérgica.[15] Vários autores, como Durham et al.,[24] comprovaram uma redução de cinco vezes no número de mastócitos no local da inflamação.

Estudos comprovam que, após a administração de imunoterapia, ocorre diminuição dos níveis de IL-4 e aumento da liberação de IFN-γ, cujos níveis eram praticamente indetectáveis antes do tratamento. Desta forma, comprovam o desvio de células Th2 para células com perfil Th1.[7]

Tais alterações nos perfis de citocinas induzidas pela imunoterapia específica se correlacionam com a redução das respostas cutâneas imediatas e tardias aos alérgenos, assim como com a redução das respostas tardias nasais e brônquicas pós-provocação com alérgenos, com consequente diminuição da hiperresponsividade específica das vias aéreas superior e inferior.[9]

INDICAÇÕES E CONTRAINDICAÇÕES DA IMUNOTERAPIA

Segundo a Organização Mundial da Saúde, a vacina antialérgica é indicada nos pacientes portadores de alergias mediadas por anticorpos IgE, ou seja, nos indivíduos sensíveis a alérgenos ambientais que apresentem manifestações clínicas, como as alergias respiratórias, e em pacientes que apresentem reações anafiláticas a picada de insetos.

A indicação da imunoterapia deve ser fundamentada na comprovação da sensibilização (presença de anticorpos IgE para os alérgenos), na avaliação da importância da alergia no quadro clínico do paciente e na disponibilidade do alérgeno para o tratamento.[25]

A imunoterapia deve ser usada somente quando outras terapias são ineficazes e deve envolver a administração de alérgeno padronizado específico em um esquema de tratamento que assegure que uma quantidade adequada do alérgeno é injetado de acordo com um protocolo reconhecido.[10]

Em pacientes que também sofrem de asma é necessário cautela ainda maior, uma vez que apresentam maior risco de desenvolver reações indesejáveis. Pacientes com asma não controlada ou em crise de asma não devem receber aplicação de imunoterapia.[26]

Segundo a Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia & Sociedade Brasileira de Pediatria,[27] a imunoterapia é contraindicada em pacientes com doença coronariana, em pessoas que usam determinado grupo de anti-hipertensivo (betabloqueadores) ou que sofrem de outras doenças do sistema imunológico, tais como imunodeficiências e doenças autoimunes.

EXTRATOS DE ALÉRGENOS

As alergias respiratórias precisam ser diagnosticadas corretamente para que possam ser identificados os tipos de alérgenos para a composição dos extratos, a quantificação dos mesmos para uma dose ótima de cada aplicação e o tempo de duração da terapia. O diagnóstico pode ser estabelecido depois de feitos a anamnese e o exame físico, acompanhados de exames complementares que podem ser testes cutâneos de leitura imediata (Teste de Puntura ou Prick Teste), Teste RAST, que detecta o anticorpo IgE específico no sangue e/ou exames de imagem (radiografia, tomografia ou endoscopia rinossinusal) com a finalidade de diagnosticar se a rinite realmente é de procedência alérgica.[14]

Com base nas diretrizes da imunoterapia específica, descritas pela Sociedade Brasileira de Alergia e Imunopatologia (2002),[28] a seleção e a concentração dos alérgenos a serem utilizados na imunoterapia específica são baseadas nos resultados dos testes alergológicos, que fornecem dados precisos para uma adequada avaliação qualitativa e quantitativa do perfil das doenças alérgicas. Os mesmos extratos alergênicos utilizados nos testes alergológicos devem ser preferencialmente utilizados na imunoterapia específica.[28]

Recomendações internacionais enfatizam a necessidade de se garantir a qualidade dos extratos alergênicos, visando a segurança e a eficácia do tratamento. A padronização dos extratos utilizados permite ainda a redução da frequência e da gravidade das reações sistêmicas secundárias à imunoterapia específica.[29] A padronização baseia-se na determinação da potência biológica *in vivo* através de testes cutâneos de hipersensibilidade imediata, e *in vitro*, através de ensaios de inibição da determinação sérica de IgE específica (RAST ou Elisa). Em ambos os casos realiza-se a comparação entre o extrato testado e um extrato considerado de referência pela Organização Mundial da Saúde.[30] Mais recentemente tem sido utilizada a medida de alérgenos principais em unidades de massa para padronização de alguns extratos alergênicos. A avaliação de

um extrato alergênico diz respeito à determinação de alérgenos específicos presentes na solução, já que a eficácia da imunoterapia está relacionada à administração de quantidade fixa e regular do alérgeno.[29]

A dose ótima é definida como a dose de vacina de alérgeno capaz de induzir um efeito clinicamente relevante na maioria dos pacientes, sem causar efeitos colaterais indesejáveis. A dose ótima deve ser a dose alvo de manutenção para todos os pacientes. Doses de 5 µL a 20 µL do alérgeno principal são doses ideais de manutenção para os ácaros domésticos, pêlos de gato, pólen e venenos de insetos. Essas doses foram definidas e projetadas com precisão em estudos específicos controlados, e analisadas no documento de posição da OMS.[26] É útil rever as recomendações de acordo com os diferentes alérgenos. Tal como acontece com qualquer abordagem terapêutica, a relação risco/benefício deve ser cuidadosamente considerada para determinar se a imunoterapia específica deve ser continuada.[12]

Somente médicos com formação em alergologia podem selecionar as vacinas de alérgenos clinicamente relevantes para a terapia.[31]

VIAS DE ADMINISTRAÇÃO DA IMUNOTERAPIA

A via de administração preferencialmente utilizada para o tratamento de alergias respiratórias é a subcutânea e diversos protocolos podem ser adotados.[12]

A inconveniência das visitas frequentes para aplicação das injeções, o desconforto associado e a possibilidade de reações adversas conduziram à investigação de vias não injetáveis.[4] Diversos trabalhos vêm sendo publicados, mostrando a eficácia da imunoterapia por outras vias de administração (sublingual, epicutânea, oral, nasal e brônquica);[32] entretanto, são necessários estudos posteriores para padronização e comprovação da eficácia destas alternativas, atraentes pelos menores riscos de efeitos colaterais e pela comodidade do uso.[31] A autoaplicação pelo paciente também necessita ser estudada, tendo em vista a regularidade das aplicações que seriam desconhecidas pelo médico especialista, dificultando a avaliação da eficácia do tratamento.

A administração pela via sublingual apresenta desvantagens relacionadas ao maior tempo para obtenção de efeitos clínicos e menos evidências quanto à sua eficácia em grupos específicos, além da duração de seus efeitos após a suspensão do tratamento. E ainda tem um custo maior por serem necessárias concentrações muito maiores de alérgenos em comparação com a imunoterapia subcutânea. Além disso, as doses efetivamente absorvidas na mucosa oral são variáveis.[9]

As reações adversas da aplicação através da via subcutânea podem ser locais ou sistêmicas. Ocorrem em 5% a 35% de pacientes com asma, sendo o maior risco a anafilaxia dos portadores dessa afecção, devendo, portanto, ser realizada por profissionais capacitados que tenham a seu dispor todas as condições e equipamentos necessários para tratamento de emergência em caso de reações graves.[31]

EFICÁCIA DA IMUNOTERAPIA ESPECÍFICA

Estudos controlados demonstram que a imunoterapia específica com alérgenos é eficaz no tratamento de pacientes com asma, rinite alérgica e nas reações anafiláticas por venenos de insetos.[31]

A imunoterapia alérgeno-específica, indicada e realizada por médico qualificado, é o único tratamento capaz de alterar o curso natural da doença alérgica e, em alguns casos, promover sua cura. Previne a evolução da rinite para asma, além de dificultar o desenvolvimento de novas sensibilizações para outros alérgenos nos pacientes hipersensíveis.[27,29]

Segundo a Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia & Sociedade Brasileira de Pediatria (2011),[27] as vacinas para alergia provocam diminuição dos sintomas de rinite e asma, com melhora perceptível na qualidade de vida da pessoa alérgica.

A imunoterapia específica apresenta benefícios únicos de longo prazo que incluem a manutenção da eficácia clínica após a sua descontinuação, a prevenção de novas sensibilizações e a prevenção de asma em pacientes com rinite alérgica. Assim, espera-se manter em repouso ou corrigir uma resposta imune já conduzida de forma exagerada e inoportuna.[15,27,33]

Segundo a Organização Mundial da Saúde, considera-se como critério de cura da imunoterapia específica desde que o paciente fique um ano sem crises de rinite alérgica ou asma; sendo assim, estudos recentes comprovaram 80% de cura e os 20% restantes melhoraram muito tornando as crises muito espaçadas.

A aplicação de dosagens ótimas das vacinas com os alérgenos aumenta a eficácia e a segurança da imunoterapia. Dose baixa de imunoterapia é ineficaz e doses elevadas de vacinas de alérgenos podem induzir uma elevada taxa de reações sistêmicas indesejáveis.[25]

A imunoterapia é uma estratégia extremamente útil no manuseio das alergias respiratórias, onde geralmente induz a remissão prolongada de sintomas, sem a necessidade de uso contínuo e prolongado de medicamentos, possibilitando a redução da dose e/ou da frequência de uso de drogas de alívio e de controle da doença, reduzindo assim o custo total do tratamento, aumentando a qualidade de vida e melhorando o prognóstico em longo prazo.[9]

A adesão do paciente ao regime de imunoterapia específica pode ser a diferença entre o sucesso e o fracasso do tratamento, pois todo tratamento que necessita de longos prazos está sujeito a altas taxas de abandono.[12]

CONCLUSÃO

Após uma revisão detalhada de diversos estudos publicados nos últimos anos, pode-se concluir que a imunoterapia tem se mostrado eficaz quando administrada com cautela por profissionais qualificados, com a devida dosagem e padronização dos extratos, com a correta duração do tratamento, em pacientes previamente diagnosticados com alergias respiratórias onde o alérgeno causador foi identificado.

Os estudos demonstram também que a imunoterapia pode prevenir o desenvolvimento de novas sensibilizações nos pacientes atópicos, evitando o agravamento das reações alérgicas, o que amplia sua aplicação.

A disponibilidade de extratos de alérgenos, cada vez mais purificados e padronizados em relação à sua potência, permite definir as doses ótimas a serem administradas por via subcutânea no paciente alérgico respiratório.

Quanto à via de administração, o uso da imunoterapia através de injeções subcutâneas apresenta maior eficácia quando comparada a outras vias. A imunoterapia administrada por via sublingual vem sendo cada vez mais empregada, mas é considerada um procedimento ainda em fase investigativa.

Abstract

Specific immunotherapy has, more than 100 years, being used for the treatment of respiratory allergies, which have increased occurrence worldwide and currently reaches approximately 40% of the world population, causing damages the quality of life of the person with these conditions. This therapy aims to reduce the awareness of the individual to certain allergens and has been proven effective in the long term. In this context, this article provides an overview on the scientific literature on the subject, trying to discuss the clinical efficacy of specific immunotherapy, as well as a review of its mechanism of action, indications and contraindications, allergen extracts and routes of administration.

Keywords

Immunotherapy; Hipersensibility; Asthma; Rhinitis; Allergens

REFERÊNCIAS

1. Galvão CES, Castro FFM. Alergias respiratórias e poluição ambiental. Revista Brasileira de Medicina (São Paulo). 2005; 275-80.
2. Solé D, De Mello Jr. JF, Rosário Filho N. (coord.). II Consenso Brasileiro sobre Rinites. Rev. bras. alerg. imunopatol. (São Paulo). 2006; 29(1):29-59.
3. Ministério da Saúde (Brasil). Doenças Respiratórias Crônicas. Cadernos de Atenção Básica, 2010; n. 25; Brasília - DF.
4. Grupo de Assessoria de Imunomodulação. Eficácia e segurança da imunoterapia com alérgenos - 100 anos de certificação. Rev. bras. alerg. imunopatol. 2011;34: 2.
5. Calamita Z. Saconato H, Pelá AB, Atallah AN. Efficacy of sublingual immunotherapy in asthma: systematic review of randomized-clinical trials using the Cochrane Collaboration method. Allergy. 2006; 61(10):1162-72.
6. Galvão & Castro. As alergias respiratórias. Rev Med (São Paulo), 2005;84(1):18-24.
7. Norman PS. Immunotherapy: 1999-2004. J Allergy Clin Immunol, 2004;113:1013-23.
8. Rego FX de M. XXXVIII Congresso Brasileiro de Alergia e Imunopatologia Editorial. Rev. bras. alerg. imunopatol. 2011;34: 4.
9. Silva EC de F. Imunoterapia Específica em Alergia Respiratória. Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto, UERJ, 2008; Ano 7.
10. Sussman GL, Moote DW. Guidelines for the use of allergen immunotherapy. Canadian Society of allergy and clinical Immunology. 2007;152 (9).
11. Baptistella E, Maniglia S, Malucelli DA, Rispoli D, Pruner de Silva T, Tsuru FM, et al. Allergen-specific immunotherapy in patients 55 years and older: results and review of literature. Int Arch Otorhinolaryngol. 2013;17(4):375-9.
12. Bousquet J, Schünemann HJ, Bousquet PJ, Bachert C, Canonica GW, Casale TB, et al. How to design and evaluate randomized controlled trials in immunotherapy for allergic rhinitis: an ARIA-GA(2) LEN statement. Allergy. 2011;66(6):765-74.
13. Ibiapina Cda C, Sarinho ES, Camargos PA, Andrade CR, Cruz Filho AA. Allergic Rhinitis: epidemiological aspects, diagnosis and treatment. J Bras Pneumol. 2008;34(4):230-40. [Article in English, Portuguese]
14. Galvão CES, Castro FFM. Rinite Alérgica. Revista Brasileira de Medicina (São Paulo), 2005;23-30.
15. Pipet A, Botturi K, Pinot D, Vervloet D, Magnan A. Allergen-specific immunotherapy in allergic rhinitis and asthma. Mechanisms and proof of efficacy. Respir Med. 2009;103(6):800-12.
16. Reis AP. Imunoterapia em pediatria. Indicar ou não indicar e quando. Pediatria (São Paulo), 1998;20(2):106-11.
17. Moingeon P, Batard T, Fadel R, Frati F, Sieber J, Van Overtvelt L. Immune mechanisms of allergen-specific sublingual Immunotherapy. Allergy. 2006;61(2):151-65.
18. Wachholz PA, Soni NK, Till SJ, Durham SR. Inibition of allergen-IgE binding to B cells by IgG antibodies after grass pollen immunotherapy. J Allergy Clin Immunol. 2003;112(5):915-2,
19. Rolland JM, Gardner LM, O'Hehir RE. Allergen-related approaches to immunotherapy. Pharmacol Ther. 2009;121(3):273-84.
20. Till SJ, Francis JN, Nouri-Aria K, Durham SR. Mechanisms of Immunotherapy. J Allergy Clin Immunol. 2004;113(6):1025-34.
21. Ling EM, Smith T, Nguyen XD, Pridgeon C, Dallman M, Arbery J, et al. Relation of CD4+CD5+ regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. Lancet. 2004;363(9409):608-15.
22. Thunberg S, Akdis M, Akdis CA, Grönneberg R, Malmström V, Trollmo C, et. al. Immune regulation by CD4+CD25+ T cells and interleukin-10 in birch pollen-allergic patients and non-allergic controls. Clin Exp Allergy. 2007;37(8):1127-36.
23. De Amici M, Puggioni F, Casali L, Alesina R. Variations in serum levels of interleukin (IL)-1beta, IL-2, IL-6, and tumor necrosis factor-alpha during specific immunotherapy. Ann Allergy Asthma Immunol. 2001;86(3):311-3.
24. Durham SR, Varney VA, Gaga M, Jacobson MR, Varga EM, Frew AJ, Kay ABI. Grass pollen immunotherapy decreases the number of mast cells in the skin. Clin Exp Allergy. 1999;29(11):1490-6.
25. Dykewicz MS, Fineman S, Skoner DP, Nicklas R, Lee R, Blessing-Moore J, et al. Diagnosis and management of rhinitis: complete guidelines of the Joint Task Force on Practice Parameters in Allergy, Asthma and Immunology. American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology. Ann Allergy Asthma Immunol. 1998;81(5 Pt 2):478-518.
26. Incorvaia C1, Frati F, Puccinelli P, Riario-Sforza GG, Dal Bo S. Dose dependence of efficacy and safety of subcutaneous immunotherapy. Monaldi Arch Chest Dis. 2006;65(1):41-3.
27. Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia; Sociedade Brasileira de Pediatria. Imunoterapia Alérgeno-Específica. Projeto Diretrizes, Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, 2011.

28. Sociedade Brasileira de Alergia e Imunopatologia. Alergias: Imunoterapia Específica. Projeto Diretrizes, Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, 2002.
29. Zavadniak AF, Filho NAR, Arruda LK, Castro FFM, Solé D, Aun WT, et al. Verificação da potência de extratos alergênicos comerciais de Dermatophagoides pteronyssinus para imunoterapia. Rev. bras. alerg. imunopatol. 2004;27(2):46-54.
30. Geraldini M. Filho NAR, Castro FFM, Seba J, Rubini NP M. Alérgenos recombinantes na prática da imunoterapia. Rev. bras. alerg. imunopatol 2008; 31:3.
31. Bousquet J, Lockey R, Malling HJ. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. J Allergy Clin Immunol. 1998;102(4 Pt 1):558-62.
32. Agostinis F, Forti S, Dl Berardino F. Grass transcutaneous immunotherapy in children with seasonal rhinoconjunctivitis. Allergy. 2010;65(3):410-1.
33. Lourenço EA, Pandini FE, Sanchez AL, Silva AR da. Efeitos da imunoterapia dessensibilizante específica no prurido e espirros da rinite alérgica. Perspectivas Médicas. 2008;19(1):5-9.

Correspondência
Tamine Jandrey da Rosa
RS-239, n. 2755 – Vila Nova
93352-000 – Novo Hamburgo-RS, Brasil

Síndrome de hiperinfecção e/ou disseminação por *Strongyloides stercoralis* em pacientes imunodeprimidos

Hyperinfection syndrome and/or dissemination by Strongyloides stercoralis *in immunosuppressed patients*

Adriana Trajano Torres de Santana[1]
Melina Bezerra Loureiro[2]

Resumo
A estrongiloidíase é causada principalmente pelo *Strongyloides stercoralis*, que afeta cerca de 30 a 100 milhões de pessoas em todo o mundo, sendo encontrada com maior frequência em países de clima tropical e subtropical. Usualmente, as infecções causadas por esse parasita são crônicas e assintomáticas, podendo persistir por décadas sem ser diagnosticada. Porém, em indivíduos imunodeprimidos, essa infecção pode se desenvolver para quadros mais graves como hiperinfecção e/ou disseminação, considerados como as formas que causam maior índice de mortalidade. Este trabalho relata, a partir de uma revisão da literatura, a associação do desenvolvimento da infecção causada pelo *Strongyloides stercoralis* em imunodeprimidos e a capacidade de evolução do parasita em indivíduos que fazem uso de corticosteroidoterapia, ressaltando a importância do diagnóstico precoce para evitar as formas graves da doença.

Palavras-chave
Estrongiloidíase; *Strongyloides stercoralis*; Imunocomprometimento

INTRODUÇÃO

A estrongiloidíase, também conhecida por estrongiloidose ou anguilulose, foi descoberta pela primeira vez em 1876, quando foram observadas larvas do parasita nas fezes dos soldados franceses que apresentavam um quadro de diarreia intensa, ficando conhecida como "diarreia da Conchinchina", no sudeste da Ásia. Está doença é causada por duas espécies de helmintos do gênero *Strongyloides*, o *Strongyloides fuellerborni* e o S*trongyloides stercoralis*, sendo este último considerado a espécie mais comum e de maior importância clínica para o homem.[1]

Strongyloides stercoralis é um dos patógenos mais comuns distribuídos mundialmente e de grande importância clínica, que infecta cerca de 30 a 100 milhões de pessoas em todo o mundo. A estrongiloidíase é uma infecção global emergente que é subestimada em muitos países. Esta doença é considerada endêmica (infecção de 1%-5%), especialmente na Europa Central, Sudeste da Ásia, América Latina e na África subsaariana. Nas regiões não endêmicas do mundo, é diagnosticada principalmente em indivíduos imigrantes de países endêmicos, pessoas que trabalham com o solo (como em minas de carvão e fazendas) e pacientes que apresentam alterações na imunidade celular, enquanto que a infecção causada pelo *Strongyloides fuellerborni* ocorre esporadicamente na África e no sudeste da Ásia.[2]

O aumento contínuo na taxa de infecção é atribuído à falta de higiene pessoal, água potável insuficiente, medidas sanitárias insatisfatórias e à falta do conhecimento sobre a doença nas populações de alto risco. Muitos relatos de casos sobre o surgimento da doença em diferentes partes do mundo, consideradas como regiões não endêmicas, estão sendo publicados. A predominância destes estudos está associada a pacientes diagnosticados com doenças imunossupressoras, pacientes em tratamento com corticosteroides, receptores de órgãos transplantados e pacientes com doenças hematológicas malignas ou outras doenças debilitantes. Globalmente, as taxas de estrongiloidíase foram consideradas tão elevadas, chegando a 50%, principalmente em regiões que apresentam solo úmido (África Ocidental, Sudeste da Ásia e regiões tropicais do Brasil).[2] A infecção causada por esse helminto é assintomática ou oligossintomática, porém pode assumir quadros

[1]*Estudante. Curso de Farmácia. Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN – Natal-RN, Brasil.*
[2]*Doutora. Curso de Farmácia. Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN – Natal-RN, Brasil.*

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN – Natal-RN, Brasil.

Artigo recebido em 02/12/2014
Artigo aprovado em 01/02/2016
DOI: 10.21877/2448-3877.201600331

de extrema gravidade sob a forma de uma síndrome de hiperinfecção e/ou disseminação, como também pode persistir por décadas no hospedeiro e não ser diagnosticada.[3] Os casos de Síndrome de Hiperinfecção por Strongyloides (SHS) são caracterizados pelo aumento do número de larvas que são excretadas nas fezes ou no escarro em conjunto com outros sintomas do trato gastrointestinal e respiratório, em que nesta fase da doença as larvas estão confinadas nos sítios onde o ciclo parasitário normalmente ocorre – pele, pulmão e intestino.[1] Já quando as larvas são encontradas em outros órgãos, como, por exemplo, cérebro, fígado e rins, a estrongiloidíase passa a ser conhecida como a forma disseminada, sendo esta forma considerada a mais grave e de maior índice de mortalidade.[4]

O presente trabalho teve como objetivo fazer uma abordagem da relação do desenvolvimento do *Strongyloides stercoralis* em pacientes imunodeprimidos, dando ênfase às possíveis doenças ou drogas utilizadas que pudessem debilitar a ação do sistema imunológico, a partir de uma revisão da literatura, tendo como ferramenta embasadora livros e artigos científicos disponíveis em revistas e periódicos. Para o desenvolvimento dessa pesquisa, foram utilizadas como fonte de busca as bases de dados: PubMed, SciELO, ScienceDirect, periódicos Capes. Foram utilizados artigos nacionais e internacionais disponíveis *online* em textos completos, aplicando os seguintes descritores: *Strongyloides stercoralis*; Estrongiloidíase em indivíduos imunodeprimidos; Síndrome de hiperinfecção por *S. stercoralis*. Em Inglês foram utilizados como descritores *strongyloidiasis*; *strongyloidiasis in immunocompromised individuals*; *immune response to helminth infections*; *hyperinfection by strongyloides*. As fontes bibliográficas incluídas foram aquelas que abordavam a relação do desenvolvimento do helminto nesses pacientes causando a síndrome de hiperinfecção/disseminação, e foram excluídas aquelas que não se encontravam dentro da temática abordada.

CARACTERIZAÇÃO DO *STRONGYLOIDES STERCORALIS*

O Parasito

O nematelminto *S. stercoralis* pertence à ordem (superfamília) *Rhabdiasoidea*, família *Strongyloididae*. Dentre as espécies do gênero *Strongyloides*, este parasita é o que está mais adaptado ao parasitismo dos seres humanos, mas pode infectar outros primatas, como cães e gatos. Outras espécies de estrongiloides também podem infectar o homem, porém restringem-se a formas larvárias que invadem a pele, não tendo a capacidade de completar o ciclo, causando somente sintomas de larva migrans cutânea (larva de 3º estágio dos helmintos).[5]

É considerada uma espécie dimorfobiótica, ou seja, apresenta uma morfologia parasitária e outra de vida livre distinta, intercalando no ciclo evolutivo. As fêmeas partenogenéticas são responsáveis por constituir a forma parasitária, possuem aspecto filiforme, medindo 1,7 mm a 2,5 mm de comprimento. Vivem habitualmente na mucosa ou submucosa do intestino delgado, sobretudo no duodeno e porção inicial do jejuno. Reproduzem-se por partenogênese e os ovos embrionados eclodem dando origem às larvas rabditoides ou de primeiro estágio (L1), que apresentam um esôfago do tipo rabditoide com dilatações nas extremidades e um vestíbulo bucal curto. Essas larvas dão origem às larvas filarioides, ou de terceiro estágio (L3), que são longas e afiladas, apresentando uma ponta entalhada em uma de suas extremidades, sendo caracterizadas por possuírem um esôfago muito longo, o que corresponde à metade de seu comprimento. Têm a capacidade de invadir os tecidos, sendo consideradas as formas infectantes.[6] As larvas L3 liberam substâncias como as metaloproteinases, que auxiliam na penetração e na migração das mesmas através dos tecidos, até atingir pequenos vasos, chegando ao pulmão, onde atravessam os capilares alveolares e os bronquíolos, sendo transportadas junto com as secreções brônquicas até atingir a traqueia e a laringe. Quando já estão no estágio L4 são deglutidas atingindo o trato gastrointestinal e se alojando na mucosa intestinal, ficando nas glândulas de Lieber Kuhn, para posteriormente se transformarem nas fêmeas partenogenéticas, que iniciam a oviposição dando origem às larvas rabditoides.[7]

O duplo ciclo evolutivo é uma característica peculiar do *S. stercoralis*, o que permite ao parasita a sobrevida mesmo na ausência de um hospedeiro, conferindo assim uma capacidade de sobrevivência superior aos demais nematódeos. Durante esse ciclo, as larvas que são consideradas não infectantes podem dar origem a machos e fêmeas de vida livre ou se tornar infectantes, devido às fêmeas partenogenéticas serem triploides (3n), e liberar de forma simultânea três tipos de ovos que, posteriormente, darão origem a três tipos diferentes de larvas, sendo as haploides (n), que se transformam em machos de vida livre, e as diploides (2n), que originarão as fêmeas de vida livre, e também as larvas triploides (3n), que são responsáveis em dar origem às larvas filarioides.[8]

A Doença

A estrongiloidíase causada pelo *S. stercoralis* é uma doença bastante variável, que depende do grau da infecção ocasionada pelo helminto e do estado imunológico do indivíduo. Usualmente é de cunho assintomático, podendo persistir por décadas sem ser diagnosticada. Na forma sintomática, os pacientes geralmente apresentam problemas gastrointestinais, respiratórios e dermatológicos.[6]

Esta doença pode ser classificada de acordo com as manifestações clínicas apresentadas, dividindo-as em: infecção aguda, infecção crônica, SHS e na forma disseminada. A infecção aguda é incomum de se diagnosticar na prática clínica, no entanto, alguns trabalhos relatam sintomas como reação local no sítio de entrada da larva, tosse, irritação traqueal (mimetizando uma bronquite, devido à passagem das larvas pelo pulmão), diarreia aquosa, cólicas, inchaços abdominais e, em alguns casos, constipação, devido ao alojamento e maturação das larvas no intestino delgado. Já a infecção crônica, geralmente também é assintomática; entretanto, manifestações gastrointestinais (vômitos intermitentes, prisão de ventre e diarreia) e pulmonares (tosse e sintomas similares à asma) podem ocorrer. Prurido anal e manifestações dermatológicas, como urticária e larva currens, e síndrome nefrótica também estão associadas com estrongiloidíase crônica. Em relação à SHS, que está relacionada a diferentes tipos de imunocomprometimentos, como, por exemplo, os iatrogênicos (uso de corticoides sistêmicos para tratamento de asma, Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), artrite reumatoide), ou decorrente da associação do parasita com outras doenças que comprometem o sistema imunológico, como infecção pelo vírus linfotrópico das células T humanas (HTLV- I), alcoolismo, doenças hematológicas, transplantes de órgãos e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), apresenta-se de forma insidiosa com febre, dor abdominal, anorexia, náuseas, vômito e diarreia causada pelo grande e crescente número de larvas que colonizam o intestino. E a forma disseminada, quando se observa a migração das larvas para os órgãos além do ciclo pulmonar de autoinfecção, tais como fígado, coração e sistema nervoso central. Possui uma elevada taxa de mortalidade e está geralmente associada a infecções bacterianas secundárias, como pneumonia, meningite, endocardite, sepse e peritonite causada por enterobactérias ou eventualmente por fungos, que muitas vezes pode "mascarar" a infecção causada pelo helminto.[5]

A infecção pelo *S. stercoralis* pode ocorrer por meio da heteroinfecção ou primoinfecção, que se dá pela penetração das larvas filarioides pela pele, mucosa oral, esofágica e gástrica; também pode ocorrer por uma autoinfecção externa, quando as larvas radbitoides, que ficam alojadas na região perianal, se transformam nas formas infectantes e acabam penetrando pela pele dessa região; ou na autoinfecção interna, quando as larvas radbitoides evoluem para as formas filarioides ainda na luz intestinal, podendo assim causar quadros de hiperinfecção e disseminação.[9]

Imunidade

O desenvolvimento da infecção por *S. stercoralis* depende da interação entre o hospedeiro e o parasita, que, em determinadas situações, acaba ocorrendo um desequilíbrio em favor do último, originando a hiperinfecção.[10]

Nas infecções helmínticas, a resposta imune celular dominante é a do tipo Th2. Quando essas células desta resposta são diferenciadas, reconhecem os antígenos e produzem IL- 4, que estimula a produção de anticorpos IgE pelas células B e IL- 5, que ativam os eosinófilos. Estes, quando ativados, liberam seus grânulos, que contêm proteínas tóxicas para os helmintos, e os anticorpos IgE ligados ativam mastócitos, que secretam citocinas para atrair mais leucócitos, garantindo uma maior defesa do sistema imunológico para expulsar os parasitas do intestino. As células do tipo Th2 também são produtoras da citocina IL- 13, que age nos fibroblastos aumentando a síntese de colágeno e a fibrose, e, juntamente com IL- 4, podem favorecer a expressão de receptores de manose, ativando assim os macrófagos que vão participar do reparo tecidual e contribuir no dano tecidual ocasionado nas infecções crônicas por parasitas. Em conjunto, as IL- 4 e IL- 13 podem induzir um peristaltismo que, junto com o muco produzido a partir das secreções das células caliciformes, facilita a expulsão dos helmintos.[10] Os eosinófilos atuam como células apresentadoras de antígenos, aumentando a produção de citocinas IL- 4, IL- 5 e IL- 13, e também na produção de anticorpos específicos, como IgE, IgM e IgG, favorecendo a eliminação do parasita.[11]

Na infecção por *S. stercoralis*, a eosinofilia é mais frequente quando comparada com outras parasitoses, devido à fêmea partenogenética habitar dentro da submucosa do intestino e não no lúmen intestinal, provocando a reação eosinofílica mais intensa. Embora os mecanismos dependentes de eosinófilos possam causar a morte das larvas filarioides de *Strongyloides*, não são suficientes para proteger completamente o hospedeiro da infecção. Apesar disso, a ausência é um sinal de mau prognóstico para infecção causada pelo *S. stercoralis*, principalmente quando se trata de pacientes imunocomprometidos.[12] Em casos de autoinfecção, a resposta imune humoral desempenha um papel importante no controle da infecção, uma vez que a IgA controla a quantidade de larvas excretadas, inibindo a fecundidade do parasita e a viabilidade dos ovos.[13] Além disso, os mastócitos presentes no intestino liberam proteoglicanas sulfatadas que dificultam a fixação do helminto no epitélio intestinal e estimulam a contração muscular, contribuindo para a eliminação do parasita.[14] Segundo Blankenhaus et al., as infecções por *Strongyloides* podem estimular as células T regulatórias (Treg), que, por sua vez, suprimem a resposta imune protetora, como a ativação de eosinófilos dependentes de IL-5, representando um mecanismo de evasão do parasita.

Alterações das respostas imunes mediadas por células do tipo Th2 podem levar a quadros de hiperinfecção e disseminação, principalmente em pacientes em uso de

glicocorticoides. Estes fármacos possuem um amplo efeito inibitório na resposta imune mediada por linfócitos T e B, bem como um potente efeito supressor das funções efetoras dos monócitos e neutrófilos.[12] A SHS tem sido descrita em pacientes que fazem uso contínuo de glicocorticoide, independentemente da dose. Até mesmo regimes de pouca duração (6-17 dias), em pacientes imunocompetentes, podem estar associados com a hiperinfecção e disseminação da doença.[16]

Muitos parasitas, ao longo da evolução, desenvolveram mecanismos de escape do sistema imunológico, particularmente da resposta imune adaptativa, garantindo sua permanência no hospedeiro. Além da capacidade de evasão, o parasita também tem a capacidade de suprimir a resposta imune e se alojar em órgãos e células que são inacessíveis ao sistema de defesa do nosso organismo, dificultando, com isso, a ação do mesmo para que se tenha a eliminação desses parasitas.[17]

Epidemiologia

Estudos realizados por Pires e Dreyer,[18] mostraram que o *S. stercoralis* é um parasita amplamente distribuído, porém sua prevalência é maior nas regiões tropicais e subtropicais, podendo ser classificada como esporádica (<1% nos Estados Unidos, Europa e Ásia), endêmica (1%-5%, nas regiões subtropicais) e hiperendêmica (> 5%, nas regiões tropicais).

Mesmo sendo considerada uma parasitose de elevada prevalência mundial, principalmente em países subdesenvolvidos, a estrongiloidíase só foi adicionada recentemente pela Organização Mundial de Saúde (OMS) na lista de doenças parasitárias negligenciadas. Em países desenvolvidos, onde as condições socioeconômicas e sanitárias são adequadas, os principais fatores de risco para adquirir a infecção são o turismo e a imigração. Um estudo desenvolvido por Sudarshi et al.,[19] em um hospital de Londres, com 192 casos de infecção por *S. stercoralis*, verificou que, entre estes, 64 (33%) viajaram para áreas endêmicas e 128 (67%) imigraram de países que apresentavam alta prevalência dessa parasitose. Outro fator que está relacionado com o desenvolvimento da estrongiloidíase nos países desenvolvidos é o trabalho com agricultura e jardinagem, podendo ser visto em um estudo realizado por Magnaval no ano de 2000,[20] no qual, dos 17 casos de estrongiloidíase autóctone da França, 13 desses pacientes tinham contato direto com o solo devido às atividades de jardinagem que desenvolviam.

O Brasil é considerado uma área de elevada endemicidade, apresentando faixa de infecção que varia de menos de 5% até 80%, sendo que essas variações ocorrem em função da idade da população estudada e também em função das diferenças geográficas e socioeconômicas. Além das desigualdades sociais, o processo de urbanização de forma desordenada acaba contribuindo para as condições de vida precárias de uma grande parcela da população, refletindo no aumento do desenvolvimento de infecções por parasitas intestinais. Devido a essa infecção apresentar uma ocorrência de aproximadamente 5,5% nas cinco regiões brasileiras, o país foi caracterizado como uma área hiperendêmica, passando a ser incluído no Plano Nacional de Vigilância e Controle de Enteroparasitoses, no ano de 2005 e, dois anos depois, no Programa de Aceleração do Crescimento (PAC), os quais fornecem ações de saneamento básico, com intuito de garantir uma melhoria na qualidade de vida da população e assim conseguir diminuir os casos de infecção por este helminto.[21]

Em regiões onde o vírus HTLV-I apresenta elevada endemicidade, observa-se que a população infectada por este vírus apresentou uma alta prevalência de coinfecção por *S. stercoralis*. Outros estudos também relatam que, no início da epidemia da AIDS, a estrongiloidíase teria elevada prevalência nessa população, inclusive de suas formas graves; embora existam relatos de casos de estrongiloidíase disseminada em pacientes aidéticos, essa parasitose não se encontra entre os eventos oportunistas mais importantes. Além destes, outro fator que está interligado com o desenvolvimento da infecção por este helminto é o uso frequente de corticosteroides ou de alguma outra droga que cause imunodepressão.[22]

DOENÇAS INFECCIOSAS E O USO DE DROGAS IMUNOSSUPRESSORAS RELACIONADAS AO DESENVOLVIMENTO DA ESTRONGILOIDÍASE

Indivíduos imunodeprimidos são considerados uma população de risco para o desenvolvimento de estrongiloidíase grave, em que a hiperinfecção/disseminação está relacionada com uma síndrome de autoinfecção acelerada, que, em muitos casos, está associada com algum comprometimento no sistema imune. Os primeiros relatos de infecção disseminada ou hiperinfecção foram publicados por Cruz e colaboradores (1966) e Rogers e Nelson (1966), que documentaram a ocorrência de estrongiloidíase fatal associada ao linfoma e ao uso de corticoides. Entre as várias condições imunossupressoras associadas com a estrongiloidíase grave, o uso de glicocorticoides, alcoolismo e a infecção pelo retrovírus HTLV-I são as mais frequentes.[23]

Um dos principais grupos de pacientes imunocomprometidos é formado pelos indivíduos que fazem uso de fármacos imunossupressores para o tratamento de linfoma, artrite reumatoide, LES e para prevenir a rejeição de órgãos transplantados. Dentre todos os medicamentos imunossupressores prescritos para essas doenças, os

glicocorticoides são os mais frequentemente associados com a transformação da estrongiloidíase crônica na SHS.[1] Dois principais mecanismos estão envolvidos para que ocorra essa transformação: o primeiro está relacionado ao aumento da apoptose de células Th2, o que reduz o número de eosinófilos e inibe a resposta dos mastócitos, levando ao agravamento da infecção; e o segundo é a elevação da concentração de derivados de glicocorticoides, que, por sua similaridade com a ecdisona, hormônio que regula a fecundidade das fêmeas partenogenéticas e a transformação das larvas rabditoides em filarioides infectantes, leva a quadros de SHS.[8] O mesmo mecanismo é observado em pacientes etilistas, provavelmente devido ao efeito do álcool no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, que eleva os níveis de corticosteroides endógenos. Além disso, o álcool também altera a morfologia das vilosidades intestinais e pode interferir na permeabilidade e na motilidade intestinal, favorecendo a transformação das larvas rabditoides em filarioides, elevando o risco de autoinfecção. Como a estrongiloidíase ainda apresenta dificuldade para ser diagnosticada devido ao parasita ter um ciclo biológico bastante peculiar e também por se tratar de uma doença que muitas vezes é assintomática, indivíduos que apresentam infecções latentes ou subclínicas podem desenvolver outras doenças fatais muitos anos depois de ter saído da área endêmica. Assim, estudos relatam que uma melhor forma para prevenir a hiperinfecção nos pacientes cronicamente infectados é tratando-os de forma profilática antes de se iniciar uma terapia imunossupressora.[24]

Foi observada no Brasil uma prevalência de 11,8% de estrongiloidíase em pacientes imunocomprometidos, segundo Paula et al.[25] Nesse mesmo estudo, foi constatada uma coinfecção dessa parasitose em pacientes que apresentavam o vírus HIV. Até a década de 90, a hiperinfecção pelo *S. stercoralis* era considerada uma infecção oportunista em pacientes soropositivos, porém, devido à ausência de quadros graves de estrongiloidíase nessa época, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) acabou excluindo a hiperinfecção por *Strongyloides* como um dos critérios de suspeita para o diagnóstico da AIDS. A AIDS é caracterizada por apresentar uma modulação da resposta imune onde observa-se um aumento das citocinas do perfil Th2 e uma diminuição das citocinas do perfil Th1, devido à destruição das células $TCD4^+$ através do efeito citopático do vírus, ou pela citotoxicidade das células $TCD8^+$; sendo assim, o padrão dominante da resposta imune em pacientes infectados pelo vírus HIV é do tipo Th2, o que favorece infecções por outros parasitas e não por helmintos (*S. stercoralis*). Brown e colaboradores (2004) demonstraram que não há associação entre a infecção por *S. stercoralis* e o aumento da carga viral em pacientes infectados com HIV, mas, devido ao profundo estado de imunossupressão desenvolvido na AIDS, eventualmente pode haver um aumento no risco de hiperinfecção ou disseminação dessa helmintíase.[22]

Outro estado sobre imunossupressão que está envolvido com a transformação da estrongiloidíase crônica para hiperinfecção/disseminação é em casos de pacientes que apresentam o vírus HTLV-I. Em regiões onde esses dois agentes são endêmicos, além da forma de estrongiloidíase disseminada, pode também ocorrer o desenvolvimento da estrongiloidíase recorrente. Este vírus apresenta uma alta prevalência no Brasil, América Central e África, e em regiões com elevada incidência de doenças infectoparasitárias. O HTLV-I é o agente causal da mielopatia associada ao vírus ou paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) e da leucemia /linfoma de células T do adulto (ATLL), infecta predominantemente células T, induzindo ativação e proliferação celular com produção de concentrações elevadas de citocinas associadas com resposta Th1, como IL12, Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF-α) e interferon gama (INF-γ). Alguns estudos de corte transversal revelam que pacientes infectados pelo HTLV-I têm mais predisposição para desenvolver doenças parasitárias, virais e bacterianas quando comparados com indivíduos soronegativos para este vírus. Portadores que apresentam a associação do HTLV-I com *S. stercoralis* acabam tendo falha terapêutica no tratamento da estrongiloidíase, podendo ser comprovado em um estudo que observou, num universo de 33 pacientes infectados apenas pelo helminto, que 31 obtiveram a cura da doença quando tratados com tiabendazol, enquanto que, em outro estudo, em um universo de 55 pacientes coinfectados, só foi observada a cura em apenas 39 deles quando tratados com o mesmo medicamento, o que comprova a falha do sistema imune no combate ao helminto em pacientes que apresentam alguma outra doença que cause imunossupressão.[26]

A coinfecção com HTLV-I e *S. stercoralis* está relacionada com a gravidade da estrongiloidíase. A hiperinfecção pelo *S. stercoralis* é explicada pela resposta imune dos indivíduos coinfectados pelo HTLV-I. Pacientes soropositivos para o HTLV-I produzem grande quantidade de IFN-γ quando comparados com indivíduos soronegativos. A produção desta citocina modula negativamente a resposta Th2. A infecção pelo HTLV-I em indivíduos com estrongiloidíase desvia o foco da resposta Th2, a qual é dirigida contra o helminto. Assim, nesta associação, a produção de citocinas do tipo 2, principalmente IL-4 e IL-5, é diminuída, como também a produção de IgE contra antígenos do parasita. A redução da produção de citocinas e de IgE constitui a base do aumento da susceptibilidade à infecção pelo *S. stercoralis*. Dessa forma, os pacientes coinfectados com HTLV-I e *S. stercoralis* podem desenvolver estrongiloidíase crônica e a forma disseminada da doença. Além das células Th1 e Th2 estarem envolvidas na resposta imune celular e humoral, outro tipo de células T, as regulatórias (Treg), são responsá-

veis pela modulação da resposta imune. As células Treg, que são $CD4^+$ $CD25^+$ produzem IL-4, IL-10 e TGF-β. Montes e colaboradores (2010) mostraram que a frequência de células T regulatórias é maior em indivíduos coinfectados do que em pacientes somente infectados pelo *S. stercoralis*, e que este aumento correlacionou-se com a diminuição da produção de IL-5 e a contagem total de eosinófilos em indivíduos coinfectados.[27]

Existem evidências que a infecção pelo *S. stercoralis* influencia o curso clínico da infecção pelo HTLV-I. A ATLL está relacionada ao longo tempo de infecção pelo HTLV-I, não sendo comum em indivíduos jovens. Porém, observou-se que pacientes com ATLL coinfectados pelo *S. stercoralis* eram mais jovens do que os pacientes não infectados pelo helminto, sugerindo assim que o período de latência do vírus que leva ao desenvolvimento da ATLL é reduzido quando o indivíduo é coinfectado pelo *S. stercoralis*. No entanto, Plumelle e colaboradores (1997) mostraram uma melhor sobrevida dos pacientes com ATLL e *S. stercoralis* (167 dias), enquanto que nos pacientes somente com ATLL a sobrevida foi de apenas 30 dias. Estes achados sugerem que a infecção por helmintos pode alterar a clínica de doenças relacionadas com maior proliferação de células T. Com relação à mielopatia associada ao HTLV-I (HAM/TSP), estudos demonstraram que há uma associação entre HAM/TSP e coinfecção pelo helminto *S. stercoralis*.[27]

A ocorrência de disseminação da estrongiloidíase vem sendo avaliada cada vez mais em casos de pacientes que fazem transplantes de órgãos ou enxertos mesmo quando estes não se encontram em áreas endêmicas. Este fato é explicado quando altas doses de uma terapia imunossupressora são utilizadas para evitar rejeição ou por algum defeito da imunidade celular. Os pacientes transplantados estão no grupo de risco para desenvolver a SHS pelo fato de serem considerados mais susceptíveis à contaminação pela forma crônica da infecção quando comparados com outros grupos de pacientes.[28]

Estudos revelam que pacientes sujeitos a transplantes de órgãos devem utilizar a ciclosporina, uma droga imunossupressora que suprime as reações imunológicas que causam rejeição de órgãos transplantados devido à mesma apresentar uma atividade antiparasitária direta, o que pode fornecer proteção contra a síndrome de hiperinfecção. Porém, em alguns relatos de casos de pacientes transplantados foi utilizado o tacrolimus como droga imunossupressora, cuja finalidade é reduzir a atividade do sistema imune após o transplante, a fim de evitar rejeição; entretanto, essa droga ocasiona uma redução na atividade dos linfócitos T e IL2, auxiliando no desenvolvimento do *S. stercoralis* e, consequentemente, na disseminação do mesmo, devido a um aumento no ciclo de vida do parasita e, por consequência, um aumento no ciclo reprodutivo das larvas que começam a migrar para vários outros órgãos.[28]

Embora a literatura apresente poucos relatos de casos de estrongiloidíase disseminada em pacientes diabéticos, é importante destacar que, por mais que a transmissão do *S. stercoralis* seja independente do paciente ser ou não diabético, deve ter um controle devido ao seu risco de mortalidade nas formas graves. Como o diabetes é uma desordem metabólica frequente em todo o mundo, a frequência da associação entre o parasita e esse distúrbio metabólico é de extrema importância. Em um relato de caso, onde o paciente apresentava uma terapia com prednisona e azatioprina por via oral para tratamento de pênfigo vulgar, um ano depois foi diagnosticado com *Diabetes mellitus* provavelmente secundária a terapia por esteroides, e três anos depois, mesmo o paciente não estando em área endêmica foi verificada a presença de *Strongyloides* em diferentes estágios de maturação, demonstrando assim que existe uma correlação de forma indireta entre pacientes diabéticos e estrongiloidíase.[10] Podemos sugerir que esse mecanismo ocorre porque os esteroides podem gerar uma resistência à insulina, fazendo com que o corpo se torne incapaz de absorvê-la corretamente, e, com isso, o aparecimento do diabetes induzido por esteroides.

Outro quadro descrito na literatura associado a esse parasita foi o desenvolvimento de úlceras gástricas em um indivíduo que apresentava, em seu histórico médico, hipertensão arterial e asma, porém não fazia uso de corticosteroides inalados ou quaisquer outros medicamentos que interferissem no mecanismo do sistema imunológico. Nesse relato de caso, só foi possível identificar a presença do *S. stercoralis* após a realização de uma biópsia na qual foi constatada a presença de ovos e vermes adultos e pela elevada quantidade de eosinófilos. Pacientes infectados por esse nematódeo correm o risco de desenvolver úlceras gastrointestinais devido à própria ação do sistema imunológico quando está atuando no combate contra o helminto, uma vez que, durante a ação das interleucinas para destruir o parasita, a IL5, que atua na diferenciação e maturação dos eosinófilos, e estes, por apresentarem em sua composição granulações tóxicas favoráveis para destruir o parasita, também acabam se tornando prejudiciais para as microvilosidades intestinais, acarretando a formação de poros e facilitando a entrada de outras substâncias tóxicas, e, consequentemente, causando degeneração no epitélio gastrointestinal com a formação de úlceras.[29]

A hiperinfecção por *S. stercoralis* também é considerada fatal quando diagnosticada em pacientes que apresentam mieloma múltiplo, uma neoplasia maligna que resulta da proliferação monoclonal e difusa de células plasmáticas na medula óssea, representando cerca de 10% das neoplasias malignas hematogênicas. Pacientes diagnosticados com esse tipo de neoplasia apresentam como conduta terapêutica protocolos utilizando quimioterápicos e radioterapia em conjunto; nesse caso, quando indivíduos que se

encontram em áreas consideradas endêmicas para o S*trongyloides* apresentarem esse tipo de anormalidade imunológica intrínseca terão uma maior probabilidade para o desenvolvimento da hiperinfecção e disseminação da estrongiloidíase pelo fato de esses fatores (mieloma múltiplo e quimioterapia) causarem diminuição na atividade do sistema imunológico, favorecendo a síndrome de hiperinfecção. A SHS, associada ao mieloma múltiplo, apresenta uma ocorrência de 2,5%, sendo a maioria dos infectados do sexo masculino.[30] Como a terapia imunossupressora apresenta um desfecho elevado para o desenvolvimento do parasita, outras complicações secundárias, como infecções bacterianas e quadros de meningite, são consideradas de grande importância para o agravamento da hiperinfecção, uma vez que, durante a migração das larvas, através do epitélio intestinal, bactérias se disseminam causando septicemia com taxas de mortalidade de 50% a 86%.[27]

Estudos relevam que, em indivíduos saudáveis, a eosinofilia é maior quando comparada com indivíduos imunocomprometidos. Outro aspecto relevante é em relação à associação da estrongiloidíase com o HIV, em que pessoas que apresentam essa coinfecção têm um número de eosinófilos menos significativo quando comparado com indivíduos que se apresentam infectados pelo parasita e outras doenças crônicas ou fazem uso de drogas imunossupressoras. Uma série de casos de estrongiloidíase recentes mostrou que, em 33 destes casos, em um grupo de cinco pacientes, dois (40%) com síndrome de hiperinfecção apresentaram quadros de eosinofilia, o que mostra a ligação da produção dessas células quando o indivíduo se encontra parasitado. A falta de eosinofilia em pacientes mais graves, com síndrome de hiperinfecção ou disseminação, é bastante provável, sendo causada por uma fraca ou deficiente resposta do perfil Th2; com isso, essa ausência de eosinofilia periférica indica um mau prognóstico, podendo contribuir para a não identificação da infecção parasitária, facilitando no desenvolvimento e disseminação do parasita.[11]

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os pacientes imunodeprimidos que apresentam algum histórico de exposição ao *Strongyloides stercoralis* devem ter um acompanhamento clínico e laboratorial de forma periódica, ressaltando a importância da realização do exame parasitológico de fezes para que se tenha uma detecção precoce dessa infecção e, assim, estabelecer um tratamento adequado, prevenindo a ocorrência da estrongiloidíase na sua forma grave.

Apesar de ser uma infecção frequentemente leve, esse grupo de indivíduos, principalmente os que fazem uso de corticosteroidoterapia, podem apresentar-se na forma de hiperinfecção e/ou disseminação, que, na maioria das vezes, está relacionada com o aumento no índice de mortalidade, ocasionado pelo *Strongyloides stercoralis.*

Abstract

The Strongyloidiasis is mainly caused by Strongyloides stercoralis *which affects about 30 to 100 million people around the world, being found in greater frequency in countries with tropical and subtropical climates. Usually, the infections caused by this parasite are asymptomatic and chronic, that can persist for decades without being diagnosed. However, in immunocompromised individuals this infection can develop into more serious conditions such as hyperinfection and/or dissemination, considered the ways that cause the highest mortality rates. This paper reports the association of the development of infection caused by* Strongyloides stercoralis *in immunosuppressed and the development capacity of the parasite in individuals who make use of corticosteroidoterapia from a literature review, emphasizing the importance of early diagnosis to prevent severe forms of the disease.*

Keywords

Strongyloidiasis; Strongyloides stercoralis; *Immunocompromise*

REFERÊNCIAS

1. Marcos LA, Terashima A, Canales M, Gotuzzo E. Update on strongyloidiasis in the immunocompromised host. Curr Infect Dis Rep. 2011;13:35-46.
2. Puthiyakunnon S, Boddu S, Li Y, Zhou X, Wang C, Li J, Chen X. Strongyloidiasis- An insight into its global prevalence and management. PLoS Negl Trop Dis. 2014;8(8):e3018.
3. Siegel MO, Simon GL. Is human immunodeficiency virus infection a risk factor for Strongyloides stercoralis hyperinfection and dissemination. PLoS Negl Trop Dis. 2012;6(7):e1581.
4. Pornsuriyasak P, Niticharoenpong K, Sakapibunnan A. Disseminated strongyloidiasis successfully treated with extended duration ivermectin combined with albendazole: a case report of intractable strongyloidiasis. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2004; 35(3):531-4.
5. Focaccia R, Diament D, Ferreira MS, Siciliano RF. Tratado de infectologia. 4a ed. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte: Atheneu, 2010.
6. Neves DP, Melo AL, Linardi PM, Vitor RWA. Parasitologia humana. 12a. ed. São Paulo: Atheneu, 2011.
7. Benincasa CC, Azevedo FO, Canabarro MS, Valentim HM, Silva VD, Superti SV, Dias FS. Strongyloides Stercoralis hyperinfection syndrome: case report. Rev Bras Ter Intensiva. 2007;19(1):128-31. [Article in Portuguese]
8. Concha R, Harrington W Jr, Rogers AI. Intestinal strongyloidiasis: recognition, management, and determinants of outcome. J Clin Gastroenterol. 2005;39(3):203-11.
9. Bona S, Basso RMC. Hiperinfecção por Strongyloides stercoralis associada ao uso crônico de corticosteroide. Rev Bras Anal Clin. 2008;40(4):247-50.
10. Keiser PB, Nutman TB. Strongyloides stercoralis in the Immunocompromised Population. Clin Microbiol Rev. 2004;17(1): 208-17.
11. Padigel UM, Hess JA, Lee JJ, Lok JB, Nolan TJ, Schad GA, Abraham D. Eosinophils act as antigen-presenting cells to induce immunity to Strongyloides stercoralis in mice. J Infect Dis. 2007; 196(12):1844- 51.
12. Buonfrate D, Angheben A, Gobbi F, Muñoz J, Requena-Mendez A, Gotuzzo E, et al. Imported strongyloidiasis: epidemiology, presentations, and treatment. Curr Infect Dis Rep. 2012;14(3): 256-62.
13. Lagacé-wiens PRS, Harding GKM. Canadian immigrant with coinfection of Strongyloides stercoralis and human T lymphotropic virus 1. CMAJ. 2007; 177(5): 451-3.

14. Machado PRL, Araújo MIAS, Carvalho L, Carvalho EM. Mecanismo de resposta imune às infecções. An Bras de Dermatol. 2004; 79(6):647-64.
15. Blankenhaus B, Klemm U, Eschbach ML, Sparwasser T, Huehn J, Kuhl AA, et al. Strongyloides ratti infection induces expansion of Foxp3+ regulatory T cells that interfere with immune response and parasite clearance in BALB/c mice. J Immunol. 2011;186 (7): 4295-305.
16. Mejia R, Nutman TB. Screening, prevention, and treatment for hyperinfection syndrome and disseminated infections caused by Strongyloides stercoralis. Curr Opin in Infect Dis. 2012;25 (4):458-63.
17. Coelho-castelo AAM, Trombone AAPF, Rocha CD, Lorenzi JCC. Resposta imune a doenças infecciosas. Medicina (Ribeirão Preto). 2009;42(2):127-42.
18. Pires ML, Dreyer G. Revendo a importância do Strongyloides stercoralis. Rev Hosp Clin (Fac Med S Paulo).1993;48(4):175-82.
19. Sudarshi S, Stumpfle R, Armstrong M, Ellman T, Parton S, Krishnan P, et al. Clinical presentation and diagnostic sensitivity of laboratory tests for Strongyloides stercoralis in travelers compared with immigrants in a non-endemic country. Trop Med Int Health. 2003;8(8):728-32.
20. Magnaval JF, Mansuy JM, Villeneuve L, Cassaing S. A retrospective study of autochthonous strongyloidiasis in Région Midi-Pyrénées (southwestern France). Eur J Epidemiol. 2000;16:179-82.
21. Gonçalves AL, Machado GA, Gonçalves-Pires MR, Ferreira-Júnior A, Silva DA, Costa-Cruz JM. Evaluation of strongyloidiasis in kennel dogs and keepers by parasitological and serological assays. Vet Parasitol. 2007;147(1-2):132-9.
22. Nabha L, Krishnan S, Ramanathan R, Mejia R, Roby G, Sheikh V, et al. Prevalence of Strongyloides stercoralis in an urban US AIDS cohort. Pathog Glob Healt. 2012;106(4):238-44.
23. Teixeira MC, Inês EJ, Pacheco FT, Silva RK, Mendes AV, Adorno EV, et al. Asymptomatic Strongyloides stercoralis hyperinfection in an alcoholic patient with intense anemia. J Parasitol. 2010; 96(4): 833-5.
24. Souza A, Porto A, Santos SB, Bastos ML, Carvalho EM. Influence of HTLV-I in the incidence, immune response and clinical manifestations of other infectious diseases. Gazeta Médica da Bahia. 2009;79(1):61-7.
25. Paula FM, Costa-Cruz JM. Epidemiological aspects of strongyloidiasis in Brazil. Parasitology. 2011;138(11):1331-40.
26. Gotuzzo E, Moody J, Verdonck K, Cabada MM, Gonzales E, Van Dooren S, et al. Frequent HTLV-I infection in the offspring of Peruvian women with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis or strongyloidiasis. Rev Panam Salud Public. 2007(4): 223-30.
27. Porto MA, Alcântara LM, Leal M, Castro N, Carvalho EM. Atypical clinical presentation of strongyloidiasis in a patient co-infected with human T cell lymphotrophic virus type I. Am J Trop Med Hyg. 2005;72(5):124-5.
28. Ferreira CJ, Silva DA, Almeida PH, Silva LS, Carvalho VP, Coutinho AF, et al. Fatal disseminated strongyloidiasis after kidney transplantation. Rev Soc Bras Med Trop.2012;45(5):652-4.
29. Sheth S, Asslo F, Hallit R, Sison R, Afridi M, Spira R, et al. Strongyloidiasis: The cause of multiple gastrointestinal ulcers in an imunocompetent individual. Case Rep Med. 2014;2014:346256.
30. Yassin MA, El Omri H, Al-Hijji I, Taha R, Hassan R, Aboudi KA, El-ayoubi H. Fatal Strongyloides stercoralis hyperinfection in a patient with multiple myeloma. Braz J Infect Dis. 2010;14(5):536-9.

Correspondência
Adriana Trajano Torres de Santana
Av. General Gustavo Cordeiro de Farias, S/N,
Faculdade de Farmácia - Petrópolis,
59022-200 – Natal - RN, Brasil

Citocinas de resposta Th1 e Th2 e *diabetes mellitus* tipo 1

Th1 and Th2 response cytokins in type 1 diabetes mellitus

Roberta Nunes[1]
Caio Mauricio Mendes de Cordova[2]

Resumo
O *diabetes mellitus* tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune crônica, onde as células T autorreativas destroem as células beta pancreáticas levando à dependência de insulina exógena. Para o desenvolvimento do DM1 são necessárias numerosas interações entre as células do sistema imunológico, principalmente mediadas por citocinas de resposta T helper 1 (Th1) e T helper 2 (Th2). O presente estudo teve como objetivo analisar a relação das citocinas de resposta Th1 e Th2 no desenvolvimento do DM1 por meio de uma revisão de literatura, avaliando artigos científicos eletrônicos publicados entre os anos de 2001 e 2016, além de livros de imunologia aplicados à clínica. Diversos estudos na literatura demonstram que o perfil de secreção de citocinas durante o desenvolvimento do DM1 é de padrão Th1 onde temos como principais constituintes a IL-2 e o IFN-y. Já as citocinas de resposta Th2, compostas basicamente pela IL-4, IL-6 e IL-10, são responsáveis por bloquear a evolução do DM1. Através desses dados conclui-se que o entendimento dos aspectos imunológicos constitui a base para detecção e prevenção do DM1, sendo a disponibilidade de citocinas clonadas e purificadas uma nova perspectiva para terapias clínicas específicas para modular a resposta imune.

Palavras-chave
Citocinas; Th1 e Th2; *Diabetes mellitus* tipo 1

INTRODUÇÃO

O *diabetes mellitus* tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune órgão específica caracterizada pela destruição das células beta pancreáticas com consequente deficiência de insulina. Compreende um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresentam em comum a hiperglicemia.(1)

A hiperglicemia apresenta sintomas como poliúria, polidipsia, perda de peso, polifagia e visão turva ou complicações agudas que podem levar risco à vida, como a cetoacidose diabética e a síndrome hiperosmolar hiperglicêmica não cetótica. Em casos crônicos pode estar associada a dano, disfunção e falência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos. Na maioria dos casos, essa destruição de células beta é mediada por autoimunidade, caracterizada pelo *diabetes mellitus* tipo 1A. Porém, existem casos em que não há evidência de processo autoimune, com predomínio de outro componente, sendo, portanto, referidos como forma idiopática do DM1, definido como *diabetes mellitus* tipo 1B.(2)

A resposta imune a esses distúrbios fica a cargo de um grupo de citocinas que atuam como mediadores da comunicação intercelular, regulando a resposta imunológica por meio da maturação, proliferação, diferenciação, ativação ou inibição de diferentes células do sistema imunológico e de outros sistemas e órgãos do organismo. Apresentam grande importância na patogênese das doenças autoimunes, funcionando como mediadores e marcadores da atividade da doença e, ainda, como alvo para futuras intervenções terapêuticas.(3)

Ao se analisarem a importância do DM1, a gravidade das complicações, os impactos sociais e econômicos e os problemas de saúde que afetam a qualidade de vida de seus portadores, verifica-se uma clara necessidade de tratamentos melhorados para esta patologia. As citocinas parecem ter grande relação e importante eficácia terapêutica no DM1. Desse modo, o estudo dessas citocinas tem grande relevância, podendo contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos autoimunes associados a esta patogenia, métodos de prevenção, tratamentos e avaliação laboratorial mais eficazes. Portanto, o objetivo des-

[1]*Universidade de Blumenau – FURB – Blumenau-SC, Brasil.*
[2]*Doutor. Professor – Universidade de São Paulo – USP – São Paulo-SP, Brasil.*

Instituição: Universidade de Blumenau - FURB – Blumenau-SC, Brasil.
Conflito de interesses: Não há conflito de interesses

Artigo recebido em 12/07/2017
Artigo aprovado em 25/10/2017
DOI: 10.21877/2448-3877.201700596

se trabalho é analisar a relação das citocinas de resposta T helper 1 (Th1) e T helper 2 (Th2) no desenvolvimento do DM1.

MATERIAL E MÉTODOS

Para elaboração e desenvolvimento desse trabalho, utilizaram-se artigos científicos especializados no assunto publicados entre os anos de 2001 e 2016 em banco de dados nacionais e internacionais, tais como: PubMed, SciELO, Medline, ScienceDirect e bases de teses e dissertações da biblioteca virtual em saúde, além de livros de imunologia aplicados a clínica.

DIABETES MELLITUS TIPO 1 (DM1)

O DM1 é uma doença autoimune crônica, onde células T autorreativas destroem as células beta pancreáticas levando à dependência de insulina exógena. A etiologia do DM1 é multifatorial, envolvendo fatores imunológicos, genéticos e ambientais, que estão relacionados e atuam no desenvolvimento dessa patologia.[4,5]

Inúmeras evidências corroboram a natureza autoimune desta patologia. A presença de marcadores de autoimunidade contra as células beta e a presença de infiltrado mononuclear dentro das ilhotas pancreáticas são as de maior destaque.[6]

Os marcadores de autoimunidade são os autoanticorpos anti-ilhota ou antígenos específicos da ilhota e incluem os anticorpos anti-insulina, antidescarboxilase do ácido glutâmico (anti-GAD65), antitirosina-fosfatases (anti-IA2 e IA2B) e antitransportador de zinco (anti-Znt). Esses autoanticorpos podem estar presentes no soro de pacientes diabéticos recém-diagnosticados e de indivíduos que posteriormente irão desenvolver o DM1 vários anos antes das manifestações clínicas da doença.[1,4]

Já o processo de destruição das células beta pancreáticas, denominado insulite, ocorre pela agressão imunológica mediada por células T autorreativas, macrófagos e células *natural killer (*NK) sendo, portanto, um processo dependente da imunidade celular. O processo de insulite parece ocorrer com maior intensidade em ilhotas onde existam células beta metabolicamente ativas, ou seja, que secretam insulina. Ao longo do tempo, as células beta vão diminuindo, assim como a intensidade do processo inflamatório. Em alguns casos, o ataque autoimune não é limitado às células beta e expande-se para outros órgãos; sendo assim, portadores de DM1 são propensos a desenvolver outras doenças autoimunes órgão específicas endócrinas e não endócrinas.[4,7]

Além do componente autoimune, o risco de desenvolver DM1 é fortemente influenciado pela associação familiar (Quadro I). Aproximadamente 30% a 50% dos gêmeos monozigóticos e 3% a 6% dos parentes em primeiro grau de pacientes com DM1 desenvolvem a doença, em comparação com 0,4% dos indivíduos da população geral. Entretanto, a predisposição genética, embora necessária, não é suficiente para o desenvolvimento clínico da doença. Sabe-se que 90% dos indivíduos que desenvolvem DM1 não têm um parente em primeiro grau com diabetes.[1,3]

Quadro I - Principais genes ou regiões responsáveis pela susceptibilidade ao DM1

Região	Localização/Cromossomo	Função
IDDM1	HLA -Cromossomo 6p21.3	Apresentação dos antígenos as ilhotas e ativação das células T
IDDM2	Gene da insulina - Cromossomo 11p15	Redução da glicemia
IDD3	Cromossomo 4	Codificação da Interleucina 2

A concordância de apenas 50% para o DM1 entre gêmeos monozigóticos sugere a atuação de fatores ambientais na etiopatogênese dessa patologia (Quadro II). Componentes como vírus, bactérias, produtos alimentares, fatores antropométricos, neuronais e hormonais podem ser manifestados antes do processo autoimune e contribuir para o surgimento da doença. Desses fatores, os mais estudados são as infecções virais. Hipoteticamente, um vírus pode desencadear ou acelerar o processo autoimune contra a célula beta através da toxicidade direta, formação de um novo antígeno, mimetismo molecular ou interferência com o sistema imune.[3,8]

Quadro II - Principais fatores ambientais responsáveis pela susceptibilidade ao DM1

Fator	Mecanismo
Infecções virais	Infecções virais Formação de novo antígeno Mimetismo molecular Interferência no sistema imune
Introdução precoce de leite de vaca	Anticorpos com reação cruzada com proteínas das células beta pancreáticas

Algumas substâncias também podem provocar respostas fisiológicas locais do sistema imune em diferentes condições, consideradas como fatores ambientais casuais. A introdução precoce de leite de vaca, em particular o componente albumina, pode influenciar no início da autoimunidade. A albumina sérica bovina possui uma sequência de aminoácidos semelhante a certas proteínas das células beta pancreáticas, fazendo com que os anticorpos contra esse peptídeo contido no leite de vaca possam apresentar uma resposta imune contra as células beta.[9]

Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico do diabetes baseia-se fundamentalmente nas alterações da glicose plasmática de jejum ou após a uma sobrecarga de glicose por via oral (Quadro III).[1]

Quadro III - Valores de glicose plasmática em mg/dL para diagnóstico do diabetes mellitus e seus estágios pré-clínicos

Categoria	Jejum (8 horas sem ingestão calórica)	2 h após 75g de glicose	Casual
Glicemia normal	< 100	< 140	
Glicemia em jejum alterada	≥ 100 a < 126		
Tolerância a glicose diminuída		≥ 140 a < 200	
Diabetes mellitus	≥ 126	≥ 200	≥ 200 (com sintomas clássicos)

Fonte: Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2016.

A utilização da hemoglobina glicada (HbA1c) como método de diagnóstico para o DM deve seguir o seguinte critério, HbA1c ≥ 6,5% a ser confirmada em outra coleta (dispensável em caso de sintomas ou glicemia ≥ 200 mg/dL). Entretanto, apesar de muitos autores não considerarem ideal utilizar esse parâmetro como critério de diagnóstico do DM devido às discordâncias entre resultados de glicemia e de HbA1c, a OMS alega que a medida da HbA1c avalia o grau de exposição à glicemia durante o tempo e os valores se mantêm estáveis após a coleta. Recentemente, foi levantada a questão da influência das etnias. Os indivíduos afrodescendentes apresentam níveis mais elevados de HbA1c do que os caucasoides para valores iguais de glicemia em todas as categorias: tolerância normal à glicose, pré-diabetes e DM, levando à discordância de resultados.[1]

Existem também exames mais específicos para o diagnóstico, como a avaliação da presença de autoanticorpos nas ilhotas pancreáticas que, nos casos positivos, estão em elevado número. Os autoanticorpos mais comuns detectados em indivíduos diagnosticados com DM1 são: anticorpos anti-ilhotas pancreáticas (anti-ICA), anticorpos anti-insulina (IAA), antidescarboxilase do ácido glutâmico (anti-GAD) e antitirosinafosfatase (IA2).[10]

O tratamento clássico do DM1 consiste de aplicações diárias de insulina para o adequado controle glicêmico. Contudo, novos estudos vêm sendo realizados com o intuito de se utilizar a terapia celular para o tratamento do DM1. Várias células progenitoras apresentam grande potencial no processo de regeneração da massa de células beta, incluindo a própria célula beta, o precursor pancreático multipotente, células-tronco hematopoiéticas, células-tronco mesenquimais, células do cordão umbilical, células hepáticas ovais e esplenócitos.[11]

Sistema imune e DM1

A maioria das doenças autoimunes está ligada a um desequilíbrio entre as células autorreativas T efetoras (Teff) e as células T regulatórias (Tregs), sendo a perda da tolerância central e/ou periférica um ponto crítico na gênese da autoimunidade.[12,13]

Na tolerância central, as células T autorreativas são destruídas no timo através de vias de apoptose. Porém, esse processo é permeável, e Teffs potencialmente nocivas podem ser geradas. No entanto, elas geralmente não mediam doenças autoimunes, porque, no sistema imunológico normal, CD4 + CD25 + FOXP3 + Treg suprimem estas células Teffs potencialmente prejudiciais. Entretanto, os indivíduos portadores de doenças autoimunes podem apresentar alterações deletérias nas células Tregs, o que pode levar ao desenvolvimento de múltiplas doenças autoimunes, incluindo o DM1.[3] Além disso, a maioria dos estudos com modelos de camundongos NOD (*Non obese diabetic*) mostra que, nessa condição, as células T autorreativas são resistentes à apoptose central, o que predispõe ao surgimento da doença autoimune.[13,14]

Já a tolerância periférica é exercida através de múltiplos mecanismos. Esses mecanismos envolvem inativação funcional sem morte celular promovida pelas células Tregs. As Tregs suprimem a ativação e as funções efetoras dos linfócitos T autorreativos, caso sejam ativados na periferia.[2]

Ainda não se conhecem os mecanismos moleculares e as citocinas que controlam o surgimento deste processo autoimune. Sabe-se que as citocinas participam da homeostase de linfócitos T CD4+, CD8+ e vários outros componentes do sistema imune, podendo, desse modo, intervir com o desenvolvimento da autoimunidade.[6]

CITOCINAS

Para o desenvolvimento do DM1, são necessárias numerosas interações entre as células do sistema imunológico (Quadro IV). Estas ações são controladas por mediadores solúveis, denominadas citocinas. Cada uma destas é secretada por tipos celulares específicos em resposta a uma variedade de estímulos, produzindo efeitos característicos sobre o crescimento, a motilidade, a diferenciação ou função das células-alvo.

Os efeitos das citocinas podem ser sinérgicos ou antagônicos entre si. Um exemplo deste antagonismo é a dicotomia no padrão de produção de citocinas, Th1 e Th2. Quando os linfócitos T produzem citocinas de padrão Th1, isto é, IL-2 e IFN-γ, é induzida uma resposta predominantemente do tipo celular, caracterizada por um infiltrado rico

em neutrófilos polimorfonucleares, linfócitos e macrófagos e pela formação de granulomas. Ao contrário, quando há predomínio de padrão Th2, isto é, IL-4, IL-6 e IL-10, a resposta induzida é preferencialmente humoral, caracterizada por importante indução da síntese de IgE e anticorpos pela célula B.[6,15]

Quadro IV - Principais parâmetros imunológicos alterados no desenvolvimento do DM1

Parâmetro	Apresentação
Células Tregs	Níveis de apoptose aumentados no início do DM1
INF-γ	Aumentado diminui a produção de insulina e pode tornar as ilhotas pancreáticas melhores alvos e as células T mais responsivas
IL-2	Diminuída aumenta a atividade de linfócitos T autorreativos por diminuição da produção de células Tregs
IL-4	Elevada tem efeito protetor no DM1
IL-6	Elevada tem efeito diabetogênico

Antes de a resposta ser desviada para um padrão Th1 ou Th2, os linfócitos passam por uma fase denominada T helper zero (Th0); durante esta fase, dependendo do tipo de interação com a célula apresentadora de antígeno, e do microambiente local, um ou outro padrão irá predominar. É importante ressaltar que os dois padrões distintos, Th1 e Th2, tendem a uma inibição mútua, isto é, quando a resposta é desviada para o tipo Th1, as citocinas produzidas inibem a resposta do tipo Th2 e vice-versa.[15]

Citocinas de resposta Th1

O perfil de secreção de citocinas durante o desenvolvimento do DM1 é de padrão Th1 onde temos como principais constituintes a interleucina 2 (IL-2) e o interferon gama (IFN-γ).

O IFN-γ, também chamado de interferon imune, é sintetizado pelas células imunes, incluindo células T auxiliares, T citotóxicas e células NK quando estimuladas por citocinas. Sua função baseia-se na regulação do sistema imune através da estimulação da expressão de moléculas apresentadoras de antígenos, tanto de classe I quanto classe II; regulação do ciclo celular, crescimento celular e transição da imunidade inata para a adaptativa. Em excesso, essa citocina interfere na sinalização dos adipócitos, ativa ainda mais os macrófagos e impede a ação eficiente da insulina.[16]

O INF-γ diminui a produção de insulina pelas células beta pancreáticas sem alterar a biossíntese total da proteína ou comprometer a viabilidade celular. Essa citocina atua diretamente no fenótipo e na função das células beta pancreáticas. Em suma, pode tornar as ilhotas pancreáticas melhores alvos e as células T mais responsivas, além de mediar diminuições características na sensibilidade à glicose, aumentando desse modo o processo insulínico.

A expressão pancreática de IFN-γ em modelos animais de diabetes autoimune também tem sido relatada. Os camundongos transgênicos que contêm o gene IFN-γ ligado ao produtor de insulina humana desenvolvem insulite e subsequentemente diabetes autoimune. Alternativamente, a administração de anticorpo anti-IFN-γ diminui a incidência de diabetes em camundongos diabéticos.[17]

A IL-2 possui efeitos sobre uma grande variedade de tipos celulares, mas suas funções mais importantes dizem respeito aos linfócitos T. Ela promove a proliferação e expansão de células T regulatórias. As células Tregs são responsáveis por suprimir a ativação e função dos linfócitos T autorreativos; logo, a diminuição de IL-2 afeta diretamente a produção de células Tregs e, consequentemente, os linfócitos T autorreativos.[6]

Glicsic Milosavljevic et al.[18] demonstraram que o nível de apoptose das células Tregs é significativamente aumentado nos seis primeiros meses do diagnóstico do DM1 em humanos, voltando a valores mais baixos após esse período. Com isso, aventam a possibilidade de quantidades diminuídas de células Tregs exercerem papel fundamental na gênese do DM1.

A administração de uma dose baixa de IL-2 no início do DM1 pode impedir e também reverter a doença estabelecida em camundongos NOD. O principal mecanismo é o aumento da atividade das células Tregs no pâncreas.[19]

Embora as doses baixas de IL-2 que podem estimular as células Tregs sejam bem toleradas por períodos de tratamento curtos, a segurança da administração de uma dose baixa de longo prazo de IL-2 não é conhecida. Estudos em animais utilizando IL-2 em DM1 não relataram toxicidade. Além disso, demonstraram que camundongos NOD tratados com IL-2 por até 12 meses não mostraram qualquer toxicidade sistêmica nem qualquer efeito nocivo sobre as respostas imunes benéficas à vacinação, à infecção, gravidez e câncer. Outros estudos demonstraram que camundongos NOD jovens pré-diabéticos tratados com uma dose baixa de IL-2 em conjunto com drogas que são favoráveis para células Tregs, tais como rapamicina e glicocorticoides, podem ser protegidos contra o desenvolvimento do DM1.[20,21]

Citocinas de resposta Th2

O perfil de secreção de citocinas com intuito protetor/terapêutico para o DM1 é de padrão Th2, com a secreção predominantemente de interleucina 4 (IL-4), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10).

A IL-4 é produzida principalmente por linfócitos T CD4+ ativados, mas também por células NK, mastócitos, eosi-

nófilos e basófilos. Além de ser a principal citocina de ativação da via Th2, também tem papel importante na sobrevivência e diferenciação de linfócitos T.[22]

Essa citocina parece ter um efeito protetor no DM1. A administração de IL-4 foi relatada para prevenir o desenvolvimento do diabetes em camundongos NOD. O tratamento do diabetes induzido por estreptozotocina com anticorpos anti-IFN-γ foi associado com o aumento da expressão de RNA mensageiro de IL-4, e a inibição do diabetes autoimune pela administração adjuvante de insulina oral foi associada a um aumento local de IL-4 nas células beta pancreáticas. Acredita-se que a IL-4 protege contra a autoimunidade por inibição da resposta Th1, reduzindo a apresentação de autoantígenos específicos das células beta pancreáticas.[23]

A IL-6 é uma citocina de resposta aguda nos processos inflamatórios. Age estimulando células T e B, induzindo proteínas de fase aguda nos hepatócitos. O envolvimento da IL-6 no DM1 é sugerido já que a expressão elevada da IL-6 induz a diferenciação da célula B, a qual pode ser importante no desenvolvimento de doença autoimune, através da produção de anticorpos específicos contra constituintes da célula beta.[24]

A IL-6, apesar de ser uma citocina de resposta Th2, também pode estar relacionada com o desenvolvimento do diabetes. Essa citocina atua nas células beta, interferindo na síntese de insulina e atua nas células alfa, impedindo a produção de glucagon. Por essa razão, a IL-6 encontra-se elevada nas situações de hiperglicemia.[25]

A IL-10 é um inibidor de macrófagos e células dendríticas ativadas e está, portanto, envolvida no controle das reações da imunidade natural e da imunidade mediada por células. No DM1, pode induzir imunidade humoral contra constituintes das células beta e, em associação às citocinas Th1, exacerbar o DM1.[3,26]

Segundo Balsa,[27] a exposição das células T autorreativas à IL-10 nas ilhotas pancreáticas durante a fase efetora do diabetes acelera a doença. No entanto, a exposição sistêmica à IL-10 durante a fase pré-diabética inibe a doença. Isso sugere que a IL-10 pancreática e a IL-10 sistêmica podem ter vias distintas de funções imunorreguladoras. A IL-10 sistêmica pode inibir o DM1 através da indução de apoptose das células T autorreativas, devido à sua função imunoestimulatória sobre as células T e B ativadas. Já a IL-10 pancreática pode apenas afetar as células T CD8 que infiltram no início do processo da doença.

CONCLUSÃO

Até o momento, a única opção terapêutica para as doenças autoimunes tem sido os imunossupressores. Porém, ativar/expandir células do próprio organismo pode alcançar a mesma finalidade sem provocar os efeitos tóxicos e colaterais da imunossupressão. Apesar da promessa das citocinas como mediadores poderosos de resposta imune, muito ainda deve ser feito para seu uso na prática. É necessário fornecer doses eficazes para atingir as concentrações locais ideais e evitar os efeitos colaterais indesejáveis. Contudo, a promessa das citocinas para a clínica médica é grande e os esforços para desenvolver estratégias seguras e eficazes relacionadas às citocinas tem progredido continuamente. A avaliação laboratorial do padrão de resposta imune, em indivíduos com histórico familiar de DM1 ou não, pode se constituir uma ferramenta de grande importância na determinação do risco de desenvolvimento da doença.

Abstract

Type 1 diabetes mellitus *(DM1) is a chronic autoimmune disease, where as autoreactive T cells destroy as pancreatic beta cells leading to exogenous insulin dependence. For the development of DM1, interactions between immune system cells, mainly mediated by cytokines of T helper 1 (Th1) and T helper 2 (Th2) are required. The present study aimed to analyze the relationship of Th1 and Th2 response cytokines in the development of DM1, through a review of the literature, evaluating electronic scientific articles published between 2001 and 2016, as well as immunology books applied to the clinic. Several studies in the literature demonstrate that the cytokine secretion profile during the development of DM1 is of the Th1 pattern where we have as main constituent of IL-2 and IFN-γ. As Th2 response cytokines, composed mainly of IL-4, IL-6 and IL-10, they are responsible for blocking the progression of DM1. Through conclusive data, it is a point of view for the prevention of DM1. With the availability of cloned and purified cytokines a new perspective for specific clinical therapies to modulate the immune response.*

Keywords

Cytokins; Th1 e Th2 cells: Type 1 Diabetes Mellitus

REFERÊNCIAS

1. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. Sociedade Brasileira de Diabetes. Grupo Editorial Nacional. São Paulo, 2016. p. 348.
2. Gross JL. Diabetes Melito: Diagnóstico, Classificação, e Avaliação do Controle Glicêmico. Arq Bras Endocrinol Metab. 2002;46 (1):16-26.
3. Voltarelli JC, Donadi EA. Imunologia clínica na prática médica. 4a. ed. São Paulo: Atheneu; 2009.
4. Silva M, Mory D, Davini E. Marcadores Genéticos e Auto-imunes do Diabetes Melito Tipo 1: da teoria para a prática. Arq Bras Endrocrinol. Metab. 2008;55(2):166-80.
5. Filippi CM, Vonherrath MG. Viral trigger for type 1 diabetes: pros and cons. Diabetes. 2008;57(11):2863-71.
6. Crisostomo LG. Expressão dos receptores das interleucinas de cadeia gama comum em linfócitos T periféricos de pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 1 com início recente. São Paulo. Tese [Doutorado em Endocrinologia] - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010.
7. Van den Driessche A, Eenkhoorn V, Van Gaal L, De Block C. Type 1 diabetes and autoimmune polyglandular syndrome: a clinical review. Neth J Med. 2009;67(11):376-87.
8. Sesterheim P, Saitovitch D, Staub HL. Diabetes mellitus tipo 1: multifatores que conferem suscetibilidade à patogenia auto-imune. Scientia Medica 2007;17(4): 212-7.
9. Vaarala O. The gut immune system and type 1 diabetes. Ann N Y Acad Sci. 2002;958:39-46.
10. Mallone R, Brezar V, Boitard C. T cell recognition of autoantigens in human type 1 diabetes: clinical perspectives. Clin Dev Immunol. 2011;2011:513210.

11. Barajas M, Príncipe RM, Escalada J, Prósper F, Salvador J. New Therapeutic strategies for type 1 diabetes mellitus. An Sist Sanit Navar. 2008;31(3):219-34. [Article in Spanish]
12. Rosenzwajg M, Churlaud G, Hartemann A, Klatzmann D. Interleukin 2 in the pathogenesis and therapy of type 1 diabetes. Curr Diab Rep. 2014;14(12):553.
13. Mathis D, Benoist C. Back to central tolerance. Immunity. 2004; 20(5):509-16.
14. Liston A, Lesage S, Gray DH, O'Reilly LA, Strasser A, Fahrer AM, et al. Generalized resistance to thymic delltion in the NOD mouse, a polygenic trait characterized by defective induction of bim. Immnunity. 2004;21(6):817-30.
15. Parslow TG. Imunologia médica. 10a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
16. Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. J Leukoc Biol. 2004;75(2):163-89.
17. Ramírez AC, Marin YR Dr. C. Rivero IB. Interferón alfa y diabetes mellitus tipo 1. Rev Cubana Endocrinol. 2013;24(2):279-96.
18. Glisic-Milosavljevic S, Waukau J, Jailwala P, Jana S, Khoo HJ, Albertz H, et al. At-risk and recent-onset type 1 diabetic subjects have increased apoptosis in the CD4+CD25+ T-cell fiaction. PLoS One. 2007;2(1):e146.
19. Grinberg-Bleyer Y, Baeyens A, You S, Elhage R, Fourcade G, Gregoire S, et al. IL-2 reverses established type 1 diabetes in NOD mice by a local effect on pancreatic regulatory T cells. J Exp Med. 2010;207(9):1871-78.
20. Goudy KS, Johnson MC, Garland A, Li C, Samulski RJ, Wang B, et al. Inducible adeno-associated virus-mediated IL-2 gene therapy prevents autoimmune diabetes. J Immunol. 2011;186(6):3779-86.
21. Shoda LK, Young DL, Ramanujan S, Whiting CC, Atkinson MA, Bluestone JA, et al. A comprehensive review of interventions in the NOD mouse and implications for translation. Immunity. 2005; 23(2):115-26.
22. Voehringer D, Shinkai K, Locksley RM. Type 2 immunity reflects orchestrated recruitment of cells commited to IL-4 production. Immunity. 2004;20(3):267-77.
23. Falcone M, Yeung B, Tucker L, Rodriguez E, Krahl T, Sarvetnick N. IL-4 Triggers autoimmune diabetes by increasing self-antigen presentation within the pancreatic islets. Clinical Immunology. 2001;98(2):190-9.
24. Ishihara K, Hirano T. IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease. Cytokine Growth Factor Rev. 2002;13(4-5):357-68.
25. Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress.. Circulation. 2002;106(16):2067-72.
26. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Imunologia celular e molecular. 6a. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.
27. Balasa B, La Cava A, Van Gunst K, Mocnik L, Balakrishna D, Nguyen N, et al. A mechanism for IL-10 mediated diabetes in the nonobese diabetic (NOD) mouse: ICAM-1 deficiency blocks accelerated diabetes. J Immunol. 2000;165(12):7330-7.

Correspondência
Caio Mauricio Mendes de Cordova
Rua São Paulo 2171, Campus 3
89030-001- Blumenau-SC, Brasil.

Avaliação da presença de anemia e de deficiência de ferritina em crianças

Evaluation of the presence of anemia and ferritin deficiency in children

Ana Carolliny Fernandes Faria[1]
Letícia Gonçalves Resende Pereira[2]
Pâmela Alves Silva[1]
Roberta Angélica da Silva Heitor[1]
Wander Valadares de Oliveira Júnior[2]
Caroline Pereira Domingueti[3]

Resumo
Objetivo: O objetivo deste estudo foi comparar a presença de anemia definida por níveis reduzidos de hemoglobina com a deficiência de ferritina em crianças. **Métodos:** Foram incluídas 124 crianças com idade entre 6 e 8 anos, estudantes do ensino fundamental das escolas municipais de Divinópolis-MG. Foram determinados os níveis de hemoglobina e ferro sérico por método colorimétrico e os níveis de ferritina por turbidimetria, e foi avaliado o hematócrito. **Resultados:** Dentre as crianças avaliadas, 25% apresentaram anemia, definida por níveis de hemoglobina inferiores a 11,5 g/dL, e 18% apresentaram níveis de ferritina inferiores a 7 µg/L, o que caracteriza deficiência de ferro. Foi observada uma proporção significativa de crianças com hemoglobina abaixo de 11,5 g/dL que possuem níveis normais de ferritina, o que pode ser explicado pela presença de outras anemias comuns na infância. Também foi observada uma proporção significativa de crianças com níveis de ferritina abaixo de 7 µg/L que possuem níveis normais de hemoglobina, o que se justifica pelo fato de que a ferritina consiste em um marcador mais sensível para a detecção dos estágios iniciais da deficiência de ferro. **Conclusão:** Como a ferritina consiste em um marcador mais sensível e mais específico para avaliação da deficiência de ferro do que a dosagem da hemoglobina, seria importante incluí-la na avaliação da anemia ferropriva em crianças.

Palavras-chave
Anemia ferropriva; Criança; Ferritinas; Hemoglobinas

INTRODUÇÃO

A anemia ferropriva é a causa mais comum de anemia nutricional. É definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como a condição na qual o conteúdo de hemoglobina do sangue está abaixo dos valores considerados normais para a idade, o sexo, o estado fisiológico e a altura, sem considerar a causa da deficiência.(1) Essa anemia se caracteriza pela diminuição ou ausência das reservas de ferro, baixa concentração férrica no soro, fraca saturação da transferrina, concentração escassa de hemoglobina e redução do hematócrito, o que reflete em microcitose e hipocromia, causando distúrbio no mecanismo de transporte de oxigênio.(2)

Após seis meses de idade, as crianças são mais vulneráveis à anemia ferropriva devido ao esgotamento das reservas de ferro provenientes da gestação e da baixa ingestão pela dieta. Nesse período, há aumento da demanda orgânica por ferro em virtude do acelerado ritmo de crescimento, especialmente nos primeiros dois anos de vida.(3)

O déficit de ferro pode levar a alterações de pele e mucosas, baixo peso para a idade, alterações gastrointestinais, redução da capacidade física e mental devido à limitação do transporte de oxigênio, perda do apetite e diminuição da função imunitária. Além disso, a deficiência de ferro pode causar alterações na função cerebral, dependendo da idade do paciente, duração e gravidade do quadro anêmico, repercutindo em um prejuízo no desenvolvimento psicológico e cognitivo.(3)

A deficiência de ferro desenvolve-se no organismo em três estágios. No primeiro estágio, há diminuição da ferritina sérica, que está diretamente relacionada com as

[1]*Graduada em Farmácia. Universidade Federal de São João Del Rei – UFSJ – Campus Centro Oeste Dona Lindu – Divinópolis-MG, Brasil.*
[2]*Mestrado. Universidade Federal de São João Del Rei – UFSJ – Campus Centro Oeste Dona Lindu – Divinópolis-MG, Brasil.*
[3]*Doutorado. Docente da Unidade Curricular Bioquímica Clínica do Curso de Farmácia da Universidade Federal de São João Del Rei – UFSJ Divinópolis-MG, Brasil.*

Instituição: Universidade Federal de São João Del Rei - Campus Centro Oeste Dona Lindu – Divinópolis, MG, Brasil.
Conflito de interesses: Não há conflito de interesses.

Artigo recebido em 27/06/2017
Artigo aprovado em 19/09/2017
DOI: 10.21877/2448-3877.201700591

reservas de ferro. No segundo estágio, há um declínio da concentração do ferro sérico e aumento da capacidade de ligação do ferro. Quando há restrição na síntese de hemoglobina, ocorre o terceiro estágio, podendo se instalar a anemia. O melhor exame para estimar o ferro total do organismo, particularmente o dos depósitos, é a ferritina sérica.[4]

Ferritina é uma proteína do mecanismo primário de armazenamento de ferro e é fundamental para a homeostase do mesmo. A ferritina torna o ferro disponível para os processos celulares críticos, enquanto protege lipídios, DNA e proteínas dos efeitos potencialmente tóxicos do ferro. Alterações na mesma são comumente observadas na prática clínica, refletindo muitas vezes perturbações na homeostase do ferro ou do metabolismo. A ferritina também desempenha um papel numa variedade de outras condições inflamatórias, incluindo doenças neurodegenerativas e malignas.[5]

A determinação dos níveis de ferritina no plasma fornece aos clínicos um meio conveniente de avaliação do equilíbrio de ferro. A medição tem sido amplamente utilizada para avaliar as reservas de ferro do corpo, particularmente na detecção da deficiência e sobrecarga de ferro.[6] Na maioria das circunstâncias, a ferritina no soro é considerada como o mais sensível e específico dentre os vários testes sanguíneos disponíveis para o diagnóstico da deficiência de ferro.[7]

O diagnóstico da anemia ferropriva é amplamente realizado pelos sistemas de saúde no Brasil por meio da dosagem de hemoglobina, a qual é relativamente barata.[8,9] Contudo, tem sido demonstrado que a ferritina pode possibilitar a detecção precoce da deficiência de ferro no organismo, de modo que sua dosagem pode ser vantajosa, podendo contribuir para o diagnóstico precoce e a prevenção da anemia ferropriva na infância, quando essa deficiência pode acarretar graves consequências para o desenvolvimento físico e cognitivo.[3,8,9] Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar a associação entre os níveis de ferritina e os níveis de hemoglobina em crianças, o que é necessário para verificar se a ferritina realmente apresenta maior eficácia para o diagnóstico precoce da anemia ferropriva na infância.

MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFSJ (CAAE 43795115.4.0000.5545). Todos os responsáveis pelos participantes selecionados assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) e todos os escolares selecionados assinaram o termo de assentimento livre e esclarecido (TALE).

Foram selecionadas aleatoriamente 8 dentre as 33 escolas municipais de Divinópolis para participar do estudo. Dentre os 573 alunos do primeiro e do segundo ano do ensino fundamental com idade entre 6 e 8 anos das escolas selecionadas, 165 tiveram autorização dos pais para participar do estudo e, dentre estes, 124 aceitaram participar do estudo e tiveram a amostra de sangue coletada.

Os critérios de exclusão consistiram na presença de qualquer uma das seguintes condições: doença crônica, anemia falciforme ou talassemia relatada pelos pais, febre ou infecção nas três semanas antecedentes à coleta, doença hepática, doença renal. Contudo, nenhuma das 124 crianças apresentava alguma destas condições clínicas, de modo que todas elas foram incluídas no estudo.

Foram coletadas de cada participante do estudo, amostras de sangue venoso de 4,0 mL em anticoagulante EDTA para dosagem dos níveis de hemoglobina e para determinação do hematócrito, e amostras de sangue venoso de 4,0 mL sem anticoagulante, as quais foram centrifugadas a 3.000 rotações por minuto durante 15 minutos para obtenção do soro, o qual foi utilizado para dosagem dos níveis de ferro e ferritina.

A determinação do hematócrito foi realizada utilizando-se tubos capilares e a centrífuga de microhematócrito. Os níveis de hemoglobina e os níveis séricos de ferro foram determinados por método colorimétrico, utilizando-se os *kits* Hemoglobina K023 (Bioclin®) e Ferro Sérico K017 (Bioclin®), respectivamente. Os níveis séricos de ferritina foram determinados pelo método de turbidimetria utilizando-se o *kit* Ferritina K081 (Bioclin®).

A presença de anemia foi definida de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde como níveis de hemoglobina inferiores a 11,5 g/dL para a faixa etária de 6 a 12 anos.[10] As deficiências de ferritina e de ferro foram definidas por níveis inferiores a 7 µg/L e 50 µg/dL, respectivamente, e um hematócrito inferior a 35% foi considerado reduzido.[11,12]

As crianças foram classificadas de acordo com a presença ou não de anemia e de acordo com a presença ou não de deficiência de ferritina.

Os resultados obtidos foram analisados utilizando-se o programa estatístico SPSS 20.0. Realizou-se o teste de normalidade Shapiro-Wilk para as variáveis contínuas. Para as variáveis que apresentaram distribuição normal foram calculados os valores de média e desvio-padrão, e foi empregado o teste T de Student para comparação entre os grupos. Para as variáveis que não apresentaram distribuição normal calcularam-se a mediana e os percentis 25% e 75% e foi empregado o teste Mann Whitney U para comparação entre os grupos. Para as variáveis categóricas, calcularam-se as frequências absolutas e relativas e foi utilizado o teste Qui-Quadrado para comparação entre os grupos. Foi considerado significativo o valor $p < 0,05$.

RESULTADOS

Na Tabela 1 são mostradas as características clínicas e laboratoriais das crianças incluídas no estudo, sendo 66 crianças do sexo masculino e com média de idade de 79 meses (6,6 anos).

Tabela 1 - Características clínicas e laboratoriais das crianças participantes do estudo

Número de crianças (n)	124
Sexo masculino (n,%)	66 (53,2)
Idade (meses)	79 (72-84)
Hemoglobina (g/dL)	13,0 (11,4-14,0)
Hematócrito (%)	36 (35-38)
Ferro (µg/dL)	56 (38-78)
Ferritina (µg/L)	45 (14-104)

Variáveis não apresentaram distribuição normal e foram expressas como mediana (percentil 25% - 75%). Variáveis categóricas foram expressas como frequência absoluta e relativa n (%).

As características laboratoriais das crianças classificadas de acordo com a presença ou não de anemia definida por níveis de hemoglobina inferiores a 11,5 g/dL estão expressas na Tabela 2.

Observa-se que os níveis de hematócrito e ferro foram significativamente menores e que a proporção de crianças com níveis de hematócrito inferiores a 35% foi maior entre as crianças com anemia em comparação com aquelas sem anemia (p = 0,001, p = 0,019 e p = 0,006, respectivamente) e que não houve diferença significativa para os níveis de ferritina e para as frequências de deficiência de ferro e de ferritina.

A Tabela 3 apresenta as características laboratoriais das crianças classificadas de acordo com a presença ou não de níveis de ferritina inferiores a 7 µg/L. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos de crianças para os níveis de hemoglobina, hematócrito e ferro, e nem para as frequências de anemia, deficiência de ferro e níveis reduzidos de hematócrito.

Tabela 2 - Características laboratoriais das crianças classificadas de acordo com a presença ou não de anemia

	Crianças sem anemia	Crianças com anemia	Valor de p
Número de crianças (n)	92	32	
Hematócrito (%)	37 (36-38)	36 (34-36)	0,001*
Ferro (µg/dL)	59 ± 27	47 ± 22	0,019*
Ferritina (µg/L)	37 (13-88)	81 (25-104)	NS
Hematócrito inferior a 35% (n, %)	9 (9,8)	10 (31,2)	0,006*
Ferro inferior a 50 µg/dL (n, %)	34 (37,4)	15 (46,9)	NS
Ferritina inferior a 7 µg/L (n, %)	18 (20,0)	4 (12,5)	NS

A presença de anemia foi definida por níveis de hemoglobina inferiores a 11,5 g/dL.
Variáveis que apresentaram distribuição normal foram expressas como média ± desvio padrão e foram comparadas por meio do teste T de Student. Variáveis que não apresentaram distribuição normal foram expressas como mediana (percentil 25%-75%) e foram comparadas pelo Teste Mann-Whitney U. Variáveis categóricas foram expressas como frequência absoluta e relativa n (%) e foram comparadas pelo teste qui-quadrado. *p<0,05 para crianças com anemia em comparação com crianças sem anemia. NS = não significativo

Tabela 3 - Características laboratoriais das crianças classificadas de acordo com a presença ou não de deficiência de ferritina

	Crianças sem deficiência de ferritina	Crianças com deficiência de ferritina	Valor de p
Número de crianças (n)	100	22	
Hemoglobina (g/dL)	12,8 (11,1-14,0)	13,2 (12,9-13,9)	NS
Hematócrito (%)	36 (35-38)	36 (35-39)	NS
Ferro (µg/dL)	58 (38-81)	47 (31-58)	NS
Hemoglobina inferior a 11,5 g/dL	4 (18,2)	28 (28,0)	NS
Hematócrito inferior a 35% (n, %)	2 (9,1)	17 (17,0)	NS
Ferro inferior a 50 µg/dL (n, %)	11 (50,0)	38 (38,4)	NS

A deficiência de ferritina foi definida por níveis de ferritina inferiores a 7 µg/L.
Variáveis não apresentaram distribuição normal e foram expressas como mediana (percentil 25%-75%) e foram comparadas pelo Teste Mann-Whitney U. Variáveis categóricas foram expressas como frequência absoluta e relativa n (%) e foram comparadas pelo teste qui-quadrado. NS = não significativo.

DISCUSSÃO

A anemia é definida como a diminuição na concentração de hemoglobina e, consequentemente, a diminuição concomitante da capacidade para transportar oxigênio. Possui vários fatores precipitantes que podem ocorrer isoladamente, mas mais frequentemente ocorrem simultaneamente. Estes fatores podem ser genéticos, tais como hemoglobinopatias; infecciosos, como a malária, helmintos intestinais e infecção crônica; ou nutricionais, que incluem a deficiência de ferro, assim como deficiências de outras vitaminas e minerais, tais como ácido fólico, vitaminas A e B12, e cobre.[13]

A redução da concentração de hemoglobina sanguínea, comprometendo o transporte de oxigênio para os tecidos, tem como principais sinais e sintomas as alterações da pele e das mucosas (palidez, glossite), alterações gastrintestinais (estomatite, disfagia), fadiga, fraqueza, palpitação, redução da função cognitiva, do crescimento e do desenvolvimento psicomotor, além de afetar a termorregulação e a imunidade da criança.[2] A anemia é a segunda principal causa mundial de incapacidade e, portanto, um dos mais graves problemas de saúde pública no mundo. A anemia ferropriva, que é a mais prevalente, afeta mais da metade das crianças em idade pré-escolar em países em desenvolvimento e em torno de 30% a 40% nos países industrializados.[14]

A anemia ferropriva consiste na anemia por deficiência de ferro e é mais prevalente e grave em crianças pequenas (6-24 meses) e mulheres em idade reprodutiva. O ferro é um mineral vital para a homeostase celular e é utilizado principalmente na síntese da hemoglobina nos eritroblastos. Ele é incorporado ao anel de protoporfirina formando o heme, que, em combinação com as cadeias de globina, formarão a molécula de hemoglobina.[15] Essa deficiência ocorre quando os estoques de ferro estão esgotados e há comprometimento de seu fornecimento para os tecidos. Ferritina sérica, saturação de transferrina, receptor de transferrina e protoporfirina eritrocitária são indicadores usados como evidências bioquímicas desta deficiência. As principais causas de deficiência de ferro são a depleção dos estoques de ferro no nascimento, o decréscimo da sua ingestão, o aumento das perdas de ferro orgânico, a redução na sua absorção e o aumento da demanda.[2]

A anemia por deficiência de ferro ocorre quando a quantidade total de ferro no organismo está diminuída, sendo caracterizada pela diminuição da concentração de hemoglobina. Além desta, a medida dos níveis de ferritina tem sido recomendada no diagnóstico de deficiência de ferro, sendo esta considerada o marcador mais sensível para se detectar a deficiência de ferro precocemente.[9,10] O ferro fica estocado nas células reticuloendoteliais do fígado, baço e medula óssea, nas formas de ferritina e hemossiderina. Esta corresponde à forma degradada da ferritina, em que a concha proteica foi parcialmente desintegrada, permitindo que o ferro forme agregados, e a ferritina é a forma solúvel de armazenamento.[15]

No presente estudo, as medianas dos níveis de hemoglobina, hematócrito, ferro e ferritina das crianças se encontraram dentro dos valores de referência, apesar de ter sido observado que algumas delas apresentaram níveis destes marcadores abaixo da normalidade. Foi observado que 26% das crianças apresentavam anemia e que 18% das crianças apresentavam deficiência de ferritina. Segundo Moura et al.,[11] e a World Health Organization (WHO)[14] aproximadamente uma a cada cinco crianças apresentam anemia por deficiência de ferro, resultado bastante semelhante ao obtido nesse estudo.

Os níveis de hematócrito foram menores nas crianças com níveis de hemoglobina inferiores do 11,5 g/dL do que naquelas com níveis normais de hemoglobina, e a proporção de crianças com níveis de hematócrito abaixo de 35% foi maior entre aquelas com níveis reduzidos de hemoglobina, o que é condizente com o quadro clínico de anemia. De acordo com Osório,[2] a anemia caracteriza-se como o estágio mais avançado da anemia ferropriva, onde há diminuição dos níveis de hematócrito e hemoglobina.

Apesar de terem sido observados níveis menores de ferro sérico nas crianças com anemia, a frequência de crianças com níveis de ferro abaixo de 50 µg/dL não diferiu entre os grupos com e sem anemia. Esta divergência pode ser explicada por uma deficiência limítrofe nos níveis de ferro de muitas das crianças com anemia, de modo que estas apresentaram níveis menores de ferro do que as crianças sem anemia, mas poucas delas apresentaram níveis de ferro abaixo dos valores de referência. Isso pode ocorrer devido a inadequadas práticas alimentares, o que resulta em menor consumo e biodisponibilidade de ferro, crescimento acelerado e infecções recorrentes.[14,16]

Os níveis menores de ferro nas crianças com anemia não foram acompanhados por níveis menores de ferritina, e, ao contrário disso, os níveis de ferritina foram maiores nas crianças com níveis menores de hemoglobina, apesar da diferença não ter sido significativa. A frequência de crianças com níveis de ferritina abaixo de 7 µg/L não diferiu entre os grupos com e sem anemia, o que pode ser explicado pelos níveis maiores de ferritina no grupo de crianças com anemia. Estes achados indicam uma possível anemia ferropriva funcional, a qual consiste em um distúrbio no qual o total das reservas de ferro do corpo é normal ou aumentado, mas o fornecimento de ferro à medula óssea não é suficiente.[17] Em seu sentido mais amplo, essa definição engloba o bloqueio parcial no transporte de ferro para o eritroblasto para a síntese de eritrócito, o que é observado em indivíduos com infecções, inflamações e doenças malignas e consiste em um dos principais componentes da

anemia de doença crônica.[18] O fato de as crianças com níveis de ferritina inferiores a 7 µ/L não terem apresentado uma maior frequência de deficiência de ferro é mais um indício da possível anemia ferropriva funcional.

Além disso, como a ferritina consiste em uma proteína de fase aguda, seus níveis podem se elevar nas condições clínicas inflamatórias e infecciosas, interferindo na análise da deficiência dos estoques de ferro no organismo.[9,19] Nestas situações, é recomendado ajustar os valores de ferritina, de modo a possibilitar o diagnóstico da anemia ferropriva concomitante à inflamação ou infecção.[20] Crianças com infecções ou inflamações foram excluídas do presente estudo por meio de questionário preenchido pelos pais. Contudo, é possível que algumas crianças apresentassem um quadro infeccioso ou inflamatório mais leve ou inicial, o qual pode ter passado despercebido pelos pais.

A maior proporção de crianças com níveis de hemoglobina abaixo de 11,5 g/dL que possuem níveis normais de ferritina também pode ser explicada pela presença de outras anemias comuns na infância como a anemia megaloblástica, onde ocorre a deficiência de ácido fólico e vitamina B12, que são essenciais para o amadurecimento celular, sendo um tipo de anemia carencial, ou as anemias hereditárias que estão entre as doenças mais comuns determinadas geneticamente e possuem frequência comum na população brasileira, com consequente dispersão de genes anormais, que resultam em doenças como hemoglobinopatias e talassemias.[21] Crianças com hemoglobinopatias ou talassemias foram excluídas do presente estudo por meio de questionário preenchido pelos pais. Contudo, é possível que algumas crianças apresentassem traço talassêmico ou falcêmico, o qual é assintomático e pode não ter sido diagnosticado.

Neste estudo, não foi observada diferença significativa entre as crianças com níveis de ferritina inferiores a 7 µg/L e aquelas com níveis normais de ferritina para os níveis de hemoglobina, hematócrito e ferro. Além disso, foi observada uma maior proporção de crianças com níveis de ferritina menores que 7 µg/L que apresentaram níveis de hemoglobina maiores ou iguais a 11,5 g/dL e níveis de hematócrito maiores ou iguais a 35% do que inferiores a estes valores. Este achado é consistente se analisado na perspectiva natural da carência, onde ocorreria inicialmente a diminuição das reservas corporais do ferro, e a redução nos níveis de hemoglobina e hematócrito se instalaria apenas em um estágio mais tardio.

Na evolução da anemia ferropriva, inicialmente, as formas de reserva de ferro, ferritina e hemossiderina diminuem, persistindo normais os níveis de hematócrito e de hemoglobina. A seguir, o nível sérico de ferro diminui e, concomitantemente, a capacidade de ligação do ferro na transferrina aumenta, resultando em um decréscimo da porcentagem de saturação do ferro na transferrina. Com isso, ocorre um ligeiro decréscimo da circulação das células vermelhas. Essa fase pode ser denominada como deficiência de ferro sem anemia. A anemia por deficiência de ferro representa o estágio mais avançado com a acentuada depleção dos estoques do mineral, caracterizando-se pela diminuição da hemoglobina e do hematócrito, que se reflete em mudanças na citomorfologia eritrocitária, apresentando microcitose e hipocromia e causando distúrbio no mecanismo de transporte de oxigênio.[2]

Portanto, como a ferritina consiste em um marcador mais sensível para a detecção precoce da anemia ferropriva, é possível sugerir que as crianças que apresentam níveis reduzidos de ferritina, mas níveis normais de hemoglobina e de hematócrito possam apresentar um estágio inicial da carência de ferro no organismo, podendo futuramente evoluir para um quadro clínico com níveis de hemoglobina abaixo dos valores de referência. A proporção de crianças com níveis de ferritina inferiores a 7 µg/L que apresentaram níveis de ferro sérico abaixo dos valores de referência foi maior do que a de crianças com níveis de ferritina inferiores a 7 µg/L, que apresentaram níveis de hemoglobina ou hematócrito abaixo dos valores de referência, o que também está de acordo com o curso natural da carência de ferro no organismo.

Esses resultados chamam a atenção para outras causas e outros tipos de anemias na infância além da anemia ferropriva, sendo muito importante que os profissionais da área da saúde apresentem um olhar mais atento e crítico no momento de fornecer o diagnóstico, solicitando exames complementares à dosagem dos níveis de hemoglobina, tais como a determinação dos níveis séricos de ferro, capacidade de ligação do ferro à transferrina, saturação da transferrina e, principalmente, de ferritina, para se ter certeza do diagnóstico da anemia ferropriva, de modo a se instituir o tratamento adequado. Além de ser um marcador bastante específico da anemia ferropriva, a dosagem de ferritina sérica consiste no marcador mais sensível para o diagnóstico precoce da carência de ferro no organismo, sendo fundamental que este exame seja solicitado com maior frequência para detecção dos estágios iniciais da deficiência de ferro na infância, de modo que o tratamento possa ser iniciado precocemente, evitando o desenvolvimento da anemia e de suas complicações.

CONCLUSÃO

Neste estudo, algumas crianças apresentaram níveis baixos de ferritina, mas níveis normais de hemoglobina, indicando a presença de um estágio inicial de carência de ferro no organismo, já que a ferritina consiste em um marcador mais sensível para o diagnóstico precoce da deficiência de ferro. Por outro lado, algumas crianças tiveram

níveis baixos de hemoglobina, mas níveis normais de ferritina, indicando a presença de outras causas de anemia que não a ferropriva, já que a ferritina consiste em um marcador mais específico para o diagnóstico da anemia ferropriva do que a dosagem dos níveis de hemoglobina. Portanto, como a ferritina consiste em um marcador mais sensível e mais específico para avaliação da deficiência de ferro do que a dosagem da hemoglobina, seria importante incluir a sua dosagem mais frequentemente na avaliação da anemia ferropriva em crianças.

Agradecimentos

Agradecemos à Universidade Federal de São João Del Rei - Campus Centro Oeste Dona Lindu, ao laboratório de Bioquímica Clínica e à Bioclin.

Abstract

Objective: *The aim of this study was to compare the presence of anemia evaluated by reduced levels of hemoglobin with ferritin deficiency in children.* ***Methods:*** *It was included 124 children aged between 6 and 8 years old, students of public elementary schools in Divinópolis-MG. Hemoglobin and serum iron levels were determined by colorimetric method and ferritin levels by turbidimetry, and hematocrit was evaluated.* ***Results:*** *Among the children evaluated, 25% had anemia, defined by hemoglobin levels below 11.5 g/dL, and 18% had ferritin levels below 7 µg/L, which characterizes iron deficiency. It was observed a significant proportion of children with hemoglobin levels under 11.5 g/dL who have normal ferritin levels, which can be explained by the presence of other common childhood anemias. It was also observed a significant proportion of children with ferritin levels under 7 µg/L who have normal levels of hemoglobin, which is justified by the fact that ferritin consists of a more sensitive biomarker for the detection of early stages of iron deficiency.* ***Conclusion:*** *As ferritin consists of a more sensitive and specific biomarker for iron deficiency evaluation than the hemoglobin dosage, it is important to include it in the evaluation of iron deficiency anemia in children.*

Keywords

Anemia, Iron-deficiency; Child; Ferritins; Hemoglobins

REFERÊNCIAS

1. Almeida JLV. Prevalência de anemia ferropriva associada a fatores de risco em pré-escolares da creche cantinho do fiorello no município de Natividade - RJ. NewsLab, São Paulo. 2007; ed. 84.
2. Osório MM. Fatores determinantes da anemia em crianças. Jornal de Pediatria, 2002;78(4):269-78.
3. Capanema FD, Lamounier JÁ, Norton RC et al. Anemia ferropriva na infância: novas estratégias de prevenção, intervenção e tratamento. Rev. Med Minas Gerais. 2003;13(4 Supl.2):S30-S4.
4. Cardoso JL, Santos MJD, Colossi MCJ. Anemia ferropriva e deficiência de ferro em crianças e fatores determinantes. Revista de Nutrologia, 2008;1(2):78-83.
5. Knovich MA, Storey JA, Coffman LG, Torti SV. Ferritin for the clinician. 2009;23(3):95-104.
6. Finch CA, Vittorio BMD, Sunday SRT, et al. Plasma ferritin determination as a diagnostic tool. West J Med. 1986;145:657-63.
7. DeLoughery TG. Iron Deficiency Anemia. Med Clin North Am. 2017; 101(2):319-32.
8. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas: Anemia por Deficiência de Ferro. Portaria SAS/MS, n° 1247, 2014.
9. Parricha SR, Drakesmith H. Iron Deficiency Anemia: Problems in Diagnosis and Prevention at the Population Level. Hematol Oncol Clin North Am. 2016;30(2):309-25.
10. Organização Mundial de Saúde. O uso clínico do sangue: na medicina; obstetrícia; pediatria e neonatologia; cirurgia e anesthesia; traumas e queimaduras. Geneva: WHO. 2003.
11. Moura EC, Santos AM, Pacheco CE. Anemia ferropriva em escolares de Campinas, São Paulo: prevalência, sensibilidade e especificidade de testes laboratoriais. Rev. Bras. Saúde Matern. Infant., Recife, 2001;1(2):123-7.
12. Gold Analisa Diagnóstica Ltda. Valores de referência pediátricos. Disponível em: http://www.goldanalisa.com.br/arquivos/%7BD401AF49-4193-4C42-99CD-E552F6E2F7C2%7D_Valores_de_Referencia_Pediatrico[1].pdf
13. McLean Erin, Cogswell M, Egli I, Wojdyla D, Benoist B. Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993-2005. Public Health Nutrition. 2008; 12(4):444-54.
14. World Health Organization (WHO), United Nations Children's Fund (UNICEF), United Nations University (UNU). Iron deficiency anemia. Assessment, prevention and control. A guide for programme managers. Geneva: WHO. 2001.
15. Grotto HZW. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2008;30(5):390-7.
16. Oliveira CS, Augusto RA, Muniz PT, da Silva SA, Cardoso MA. Anemia and micronutrient deficiencies in infants attending at Primary Health Care in Rio Branco, Acre, Brazil. Cien Saude Colet. 2016;21(2):517-29. [Article in English, Portuguese].
17. Lopez A, Cacoub P, Macdougall IC, Peyrin-Biroulet L. Iron deficiency anaemia. The Lancet. 2016;387(10021):907-16.
18. Thomas DW, Hinchliffe RF, Briggs C, Macdougall IC, Littlewood T, Cavill I; British Committee for Standards in Haematology. Guideline for the laboratory diagnosis of functional iron deficiency. Br J Haematol. 2013;161(5):639-48.
19. Cook JD, Flowers CH, Skikne BS. The quantitative assessment of body iron. Blood. 2003;101(9):3359-64.
20. Engle-Stone R, et al. Predictors of anemia in preschool children: Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determiants os Anemia (BRINDA) project. Am J Clin Nutr. 2017;106(Suppl 1):402S-415S.
21. Acedo MJ, Costa VA, Polimeno NC, Bertuzzo CS. Programa comunitário de hemoglobinopatias: abordagem populacional a partir de doadores de sangue de Bragança Paulista, São Paulo, Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro. 2002;18(6):1799-802.

Correspondência

Caroline Pereira Domingueti

Rua Sebastião Gonçalves Coelho, 400 – Chanadour

35501-296 – Divinópolis-MG, Brasil

Susceptibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de colchões hospitalares

Antimicrobial susceptibility of bacteria on hospital mattresses

Suelen Mahl [1]
Eliandra Mirlei Rossi[2]

Resumo
Objetivo: Avaliar a contaminação microbiológica por *S.aureus* e *P. aeruginosa* de colchões hospitalares antes e depois da desinfecção, bem como verificar susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas isoladas. **Métodos:** As coletas nos hospitais foram realizadas com *swabs* umedecidos em solução fisiológica, os quais foram friccionados sob 134 colchões. As amostras foram semeadas em Ágar Sangue, Sal manitol, Cetrimide e Padrão para Contagem. No antibiograma foi usado o método de disco-difusão de acordo com as normas do CLSI. **Resultados:** Os resultados demonstraram que não houve contaminação dos colchões por *S. aureus* e *P. aeruginosa*, porém, em 128 colchões foi encontrada a *Staphylococcus coagulase* negativa e em seis foram encontradas cepas de *Enterobacter* sp. O perfil de susceptibilidade demonstrou que 83,60% das cepas de *Staphylococcus coagulase* negativa foram resistentes à oxacilina e 93,44% resistentes para penicilina G, enquanto que, para *Enterobacter* sp., 100% das cepas foram resistentes para ampicilina e ao imipenem respectivamente. **Conclusão:** Esses resultados permitem concluir que os colchões de hospitais podem conter microrganismos resistentes a antimicrobianos que, consequentemente, podem constituir um problema hospitalar.

Palavras-chave
Leitos; Farmacorresistência bacteriana; Bactérias; Desinfecção

INTRODUÇÃO

As infecções hospitalares atualmente constituem um grave problema de saúde pública, pois o seu conhecimento, prevenção e controle ainda representam um desafio a ser enfrentado. Essas infecções são definidas, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), como as infecções adquiridas durante a hospitalização e que não estavam presentes, ou em períodos de incubação por ocasião das admissões de pacientes.(1) No Brasil, os dados revelam que entre 6,5% e 15% dos casos são infecções hospitalares, enquanto que, na Europa e Estados Unidos da América (EUA), essa taxa é de 10%.(2)

Vários microrganismos podem ser responsáveis por infecções hospitalares, dentre eles destacam-se *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa,* que são frequentemente encontrados em unidades hospitalares e, atualmente, essas bactérias apresentam resistência intrínseca e adquirida aos antimicrobianos comumente usados.(3)

O ambiente hospitalar, incluindo as superfícies inanimadas que cercam o paciente, apresenta íntima relação com as infecções nosocomiais, podendo proporcionar focos de contato e de transmissão. Tais focos hospitalares são representados por reservatórios contidos nos pacientes colonizados, funcionários e pelo próprio ambiente.(1)

No ambiente hospitalar, encontramos os colchões, que são vistos como objetos inanimados, que permanecem próximos aos pacientes e apresentam maior contato com o corpo, podendo servir também de depósito para sujidades inorgânicas e/ou orgânicas e para microrganismos responsáveis por infecções, fator que determina a possível contaminação por bactérias provindas, principalmente, de pacientes, fortalecendo a convicção de esses colchões albergarem patógenos, incluindo os multirresistentes.(4)

Assim, a higiene do colchão é necessária, porém, quando não realizada, este pode servir como um reservatório secundário para microrganismos patogênicos, que são frequentemente encontrados em superfícies inanimadas de hospitais.

[1]*Graduada em Biomedicina - Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC – São Miguel do Oeste-SC, Brasil.*
[2]*Doutora em Microbiologia Agrícola e do Ambiente - Professora. Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC – São Miguel do Oeste-SC, Brasil.*

Instituição: Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC, Campus de São Miguel do Oeste-SC, Brasil.

Artigo recebido em 15/05/2017
Artigo aprovado em 26/09/2017
DOI: 10.21877/2448-3877.201700582

Desse modo, essa pesquisa teve o objetivo de verificar a contaminação microbiológica em colchões do ambiente hospitalar bem como verificar a susceptibilidade dos microrganismos isolados, no intuito de verificar se colchões hospitalares podem ser possíveis reservatórios, a fim de prevenir a disseminação destas bactérias no ambiente hospitalar, constituindo-se assim uma importante estratégia para o controle da resistência bacteriana e das infecções nosocomiais.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em dois hospitais da região do extremo oeste de Santa Catarina e no laboratório de Microbiologia da UNOESC campus de São Miguel do Oeste, entre outubro de 2013 e março de 2014.

As coletas foram realizadas com o uso de *swabs* umedecidos em solução fisiológica, no qual estes eram friccionados em uma área de 100 cm^2 nos colchões dos hospitais estudados. Os colchões analisados eram cobertos com uma capa de tecido do tipo napa e a estrutura interna dos colchões era composta por blocos de espuma.

Foram analisados 134 colchões, sendo 84 amostras provenientes do hospital A e 50 do hospital B. As amostras foram provenientes de 17 colchões (15 no hospital A e 2 no hospital B) antes da higienização e 117 (69 no hospital A e 48 no hospital B) depois da higienização. A diferença no número de amostras foi devido à disponibilidade de coleta nos colchões de cada hospital.

Após as coletas, os *swabs* eram armazenados nos tubos contendo solução fisiológica e transportados sob refrigeração até laboratório de microbiologia da UNOESC campus de São Miguel do Oeste para posterior realização das análises microbiológicas.

No laboratório, os *swabs* com as amostras foram agitados por dois minutos em agitador do tipo vórtex. As amostras (100 μL) foram semeadas em Ágar Sal Manitol e o Ágar Sangue para isolamento de *S. aureus* e o Ágar Cetrimide para *P. aeruginosa*. Já para a contagem bacteriana total, foi usada a técnica de *pour-plate* com Ágar Padrão para Contagem (Ágar PCA).

As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 36 ± 1ºC por 48 horas. As colônias características nos meios seletivos e diferenciais para *S. aureus* e *P. aeruginosa* foram contadas e, em seguida, foram submetidas a testes tintoriais (Coloração de Gram) e bioquímicos (Catalase, Oxidase, Coagulase, produção de H2S, Indol, Motilidade, Citrato, TSI, VM, VP, Urease, descarboxilação de Lisina e Redução de Nitrato) para confirmação dos microrganismos pesquisados.[5]

Após a identificação estes foram submetidos ao antibiograma conforme o método estabelecido pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*.[6] Os antibióticos usados foram: amicacina (30 μg); ampicilina (10 μg); azetreonam (30 μg); cefotaxima (30 μg); ciprofloxacina (5 μg); gentamicina (10 μg); imipenem (10 μg); nitrofurantoína (300 μg); sulfazotrim (23.75 1.25 μg); tetraciclina (30 μg); norfloxacim (10 μg); oxacilina (1 μg); penicilina G (10 un) e rifampicina (5 μg).

Foram considerados multirresistentes os isolados com resistência a, pelo menos, três classes de antimicrobianos.

Procedimentos éticos

A autorização dessa investigação foi obtida por meio do projeto enviado à instituição selecionada para o estudo. Como esta investigação não envolveu seres humanos como indivíduos da pesquisa, dispensou-se a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

RESULTADOS

Os resultados demonstraram que os colchões não estavam contaminados por *S. aureus* e *P. aeruginosa.* Entretanto, foi encontrada a presença de 128 cepas de *Staphylococcus coagulase* negativa (SNC) (78 no hospital A e 50 no hospital B) e seis cepas de *Enterobacter* sp. (hospital A).

As contagens médias desses microrganismos revelaram que *Enterobacter* sp. estava presente em quantidades maiores quando comparadas com a presença de SNC (Tabela 1).

Tabela 1- Média da contaminação por microrganismos isolados dos colchões hospitalares

Microrganismo isolado	Média (UFC/cm^2)	Contagem Máxima (UFC/cm^2)	Contagem Mínima (UFC/cm^2)
Staphylococcus sp.	7×10^3	3×10^4	<10
Enterobacter sp.	3×10^4	6×10^4	10×10^1

Dos 134 colchões analisados antes e depois da higienização, observou-se contaminação por bactérias heterotróficas após a desinfecção. Apesar de não eliminar completamente a contaminação, verificamos que, após a higienização, a quantidade de bactérias reduziu comparada com os resultados obtidos antes da higienização (Figura 1).

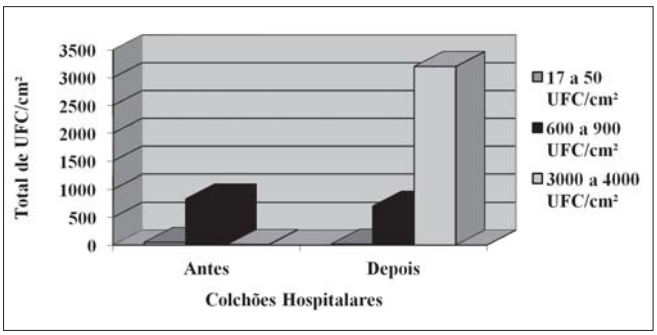

Figura 1. Contagem total de bactérias antes e depois da higienização dos colchões hospitalares.

Perfil de susceptibilidade dos microrganismos isolados dos colchões

Das 61 cepas de SCN, 51 (83,60%) eram resistentes a oxacilina, 57 (93,44%) a penicilina G, e 38 (62,29%) a antibióticos de primeira escolha nos hospitais estudados. (Tabela 2).

Tabela 2- Perfil de susceptibilidade a antibióticos nos SCN isolados de colchões hospitalares

Antibiótico	Concentração do disco	Resistentes	Sensíveis
Norfloxacin	10 μg	26 (42,62%)	35 (57,37%)
Oxacilina	1 μg	51 (83,60%)	10 (1,63%)
Penicilina G	10 un	57 (93,44%)	4 (6,55%)
Rifampicina	5 μg	20 (32,78%)	41 (67,21%)
Sulfazotrim	23.75/1.25 μg	38 (62,29%)	23 (37,70%)
Tetraciclina	30 μg	36 (59,01%)	25 (40,98%)

Já o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos para as cepas de *Enterobacter* sp. foi realizado apenas para quatro cepas, tendo em vista que duas cepas perderam sua viabilidade durante a realização desse estudo. Das quatro cepas analisadas, 100% eram resistentes à ampicilina e ao imipinem (Tabela 3).

Tabela 3 - Antibióticos testados em cepas de *Enterobacter* sp. isolados de colchões hospitalares

Antibiótico	Concentração do disco	Resistentes	Sensível
Amicacina	30 μg	2 (50%)	2 (50%)
Ampicilina	10 μg	4 (100%)	0 (0%)
Azetreonam	30 μg	3 (75%)	1 (25%)
Cefotaxima	30 μg	3 (75%)	1 (25%)
Ciprofloxacina	5 μg	1 (25%)	3 (75%)
Gentamicina	10 μg	3 (75%)	1 (25%)
Imipenem	10 μg	4 (100%)	0 (0%)
Nitrofurantoína	300 μg	3 (75%)	1 (25%)
Sulfazotrim	23.75 1.25 μg	2 (50%)	2 (50%)
Tetraciclina	30 μg	2 (50%)	2 (50%)

Comparação entre os hospitais

Na Tabela 4 observamos que houve contaminação por bactérias em todos os colchões higienizados em ambos os hospitais estudados. No hospital A, dos 84 colchões analisados, 100% apresentaram cepas de SCN ou *Enterobacter* sp. Já no hospital B, dos 50 colchões, todos apresentaram SCN. Dos dois hospitais analisados, no hospital B foi encontrado mais contaminação (média de 8,9 X 103 UFC/cm^2).

Em relação ao perfil de susceptibilidade das cepas isoladas dos colchões observou-se resistência em ambos os hospitais, mas no hospital A as bactérias isoladas apresentaram resistência para classes de antibióticos (Tabela 4).

Tabela 4 - Comparação de dados entre os dois hospitais estudados

	Hospital A n: 84	Hospital B n:50
Colchões com contaminação microbiológica	84 (100%)	50 (100%)
Contaminação por SCN	9,1 X 10^1 UFC/cm^2	8,9 X10^3 UFC/cm^2
Contaminação por Enterobacter sp.	3X10^{4}UFC/cm^2/ Enterobacter	
Produtos usados na limpeza e desinfecção	Água e sabão Incidin®	Água e sabão Álcool 70%
Principais antibióticos aos quais as cepas isoladas apresentaram resistência	Oxacilina, penicilina G, ampicilina e imipenem	oxacilina penicilina G

Os produtos utilizados pelos hospitais pesquisados, o Incidin® (glucoprotamina) e o álcool 70%, são os mais utilizados em ambientes hospitalares para desinfecção dos colchões e objetos inanimados, pois apresentam alta eficácia na eliminação de microrganismos resistentes.

DISCUSSÃO

Os colchões hospitalares podem servir de abrigo para patógenos, sendo considerados como um importante reservatório de agentes patogênicos e um veículo de transmissão,[7] pois podem ser contaminados por escamas de pele e fluidos corporais, os quais podem servir de nutrientes para os microrganismos. Apesar de nosso trabalho não ter encontrado *S. aureus* e *P. aeruginosa*, outros trabalhos[8,9] demonstraram a presença desses patógenos nos colchões, observando que a maioria das cepas isoladas de colchões era *S. aureus*. Esses autores analisaram 50 colchões e encontraram a presença de 15,6% dos colchões contaminados por *S. aureus*, enquanto que *P. aeruginosa* foi isolada apenas de três colchões, pois sua presença em colchões não é comum, uma vez que prefere ambientes úmidos como torneiras.[10]

Embora não tenhamos encontrado *S. aureus* e *P. aeruginosa* nos colchões investigados, encontramos contaminação por *Staphylococcus coagulase* negativa (SCN) e *Enterobacter* sp. Esses microrganismos são considerados patógenos oportunistas e podem ser responsáveis pelo aumento no índice de infecções hospitalares.[11]

Outros estudos demonstraram resultados semelhantes aos nossos, pois observaram que colchões de macas de pronto socorro apresentaram contaminação microbiológica por *S. aureus* e *S. coagulase* negativa e *S. saprophyticus* em todas as macas.[12]

A presença de microrganismos em colchões hospitalares aumenta os riscos de desenvolvimento de infecções nosocomiais, pois no estudo de Van der Mee-Marquet et al. também observou-se que um grupo de 15 doentes infectados/colonizados (12 infectados e três colonizados) por *Enterobacter cloacae* foram responsáveis por surtos de infecção devido a uma falha na costura do colchão que serviu de reservatório para essa bactéria.[13]

Outro problema observado em nossa pesquisa e que tem sido uma preocupação na saúde pública é a resistência dos microrganismos aos antimicrobianos. Em nosso estudo, o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de SCN isoladas (n:61) demonstraram que as maiores porcentagens de resistência foram encontradas para os principais antibióticos usados no hospital, ou seja, 93,44% das cepas foram resistentes para penicilina G e 83,60% resistentes para oxacilina.

Essa resistência é comprovada por outros estudos, como o de Robinson e Enright (2003), no qual as espécies estafilococos, sejam coagulase positiva ou negativa, apresentaram elevada resistência a benzil penicilina (penicilina G).[14] Além da resistência para penicilina G, outros estudos[15,16] demonstraram que SCN resistentes a oxacilina são um grande problema de proporção global, pois a prevalência desses microrganismos em 143 hospitais na Espanha demonstrou que 67% dos SCN isolados eram oxacilina resistentes e, destes, 56% foram identificados como *S. epidermidis*, considerada a espécie mais prevalente.[15,16]

Já o perfil de susceptibilidade das cepas de *Enterobacter* sp. isoladas (n:4) demonstrou a existência de cepas multirresistentes, o que pode ser considerado preocupante principalmente porque 100% das cepas foram resistentes para imipenem, um antibiótico de última escolha para controle de bactérias Gram negativas. Além disso, essa bactéria tem sido uma preocupação para a área da saúde tendo em vista sua capacidade clonal na resistência aos antibióticos de terceira geração, como as cefalosporinas.[13]

Essa resistência aos antimicrobianos tem sido observada em vários hospitais do país, podemos citar como exemplo a pesquisa realizada por Lago et al. em Passo Fundo-RS, na qual foram analisadas 4.888 culturas coletadas de superfícies inanimadas, mostrando que, dos isolados do gênero *Enterobacter* sp., 49,6% foram produtores de ESBL.[17]

Para eliminar ou reduzir a incidência de microrganismos resistentes nos colchões hospitalares é importante adotar práticas de higienização rigorosas. Em nosso trabalho, a diferença de incidência e quantidade de microorganismos entre o hospital A e B pode ser devida às práticas utilizadas durante a lavagem e desinfecção dos colchões, bem como às condições desses. Apesar de ambos os hospitais (A e B) efetuarem uma desinfecção dos colchões, ainda houve crescimento de microrganismos, os quais podem gerar um risco de infecção.

Os resultados de nosso estudo são semelhantes a outros trabalhos que apontam as possíveis falhas na limpeza e higienização dos colchões, destacando principalmente a perda da impermeabilidade da capa, a não verificação constante da efetiva limpeza da superfície do colchão, a reutilização de panos úmidos para desinfecção, a não observação do tempo de exposição da superfície ao desinfetante, a falta de padronização do processo de higienização e a falta de qualificação dos profissionais que realizam a higienização dos colchões.[18-20]

Além disso, ressalta-se a importância da correta higienização dos colchões, onde Oliveira et al. frisaram o uso rotineiro de água e sabão ou detergente, seguido das fases de enxague, secagem e realização da desinfecção com o álcool a 70%, ou outro desinfetante definido pela comissão local de controle de infecção hospitalar.[21] Tais desinfetantes, como antissépticos, álcool a 70% e os compostos quaternários de amônio são muito utilizados em ambientes hospitalares por apresentarem excelente ação bactericida.[22]

Ainda, Torres destaca que a limpeza mecânica é muito importante, pois em seu estudo proporcionou redução de 80% dos microrganismos nas superfícies, e, com o uso de desinfetantes, houve eliminação de 99% desses microrganismos.[23] Em outro estudo realizado em Goiânia,[24] isolaram-se as bactérias *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Enterobacter agglomerans* e *Arcanobacterium pyogenes* onde constatou-se que as contagens bacterianas reduziram-se a zero após a desinfecção *in loco* com álcool a 70% e quaternário de amônio a 3,5%.

Por isso, para obtenção de uma boa higienização deve-se considerar a correta execução de todo procedimento de limpeza e a carga microbiana inicial.[7] Portanto, é possível afirmar que um processo de limpeza e desinfecção bem eficiente das superfícies inanimadas hospitalares seja imprescindível para reduzir focos de transmissão cruzada e reservatórios de patógenos como medidas de controle e prevenção à ocorrência de infecções, tendo em vista que estudos como os de Patel et al. abordam o risco de objetos horizontais inanimados, como camas, capas e colchões, servirem de reservatórios secundários para bactérias e recomendam a limpeza, desinfecção, inspeção e testagem periódica (presença de manchas e vazamento da capa e sua substituição quando lacerada) desses materiais como estratégia para manter o ambiente hospitalar biologicamente seguro.[25]

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo permitem concluir que os colchões dos hospitais podem estar contaminados por mi-

crorganismos multirresistentes e que essas bactérias podem permanecer nesses locais mesmo após a higienização, colocando em questionamento a eficácia e efetividade dos procedimentos de higienização.

Por isso, sugere-se que o processo de higienização dos colchões hospitalares siga protocolos padronizados e que sejam feitas análises microbiológicas para verificar a eficiência desses métodos, bem como diminuir o risco de disseminação de patógenos resistentes e consequentemente o desenvolvimento de infecções nosocomiais.

Abstract

Objective: *Evaluate the microbiological contamination of* S. aureus *and* P. aeruginosa *of hospital mattresses before and after disinfection. The susceptibility of isolated strains was also verified.* ***Methods:*** *Hospital collections were made with swabs moistened with physiological solution, which were rubbed under 134 mattresses. Samples were seeded in Blood Agar, Mannitol Salt, Cetrimide and Plate Count Agar. In the antibiogram the disc-diffusion method was used according to CLSI standards.* ***Results:*** *The results showed that there was no contamination of the mattresses by* S. aureus *and* P. aeruginosa*, but in 128 mattresses* Staphylococcus negative coagulase *and six strains of* Enterobacter *sp. The susceptibility profile showed that 83.60% of strains of* Staphylococcus negative coagulase *were resistant to oxacillin and 93.44% resistant to penicillin G, whereas for* Enterobacter *sp. 100% of the strains were resistant to ampicillin and imipenem respectively.* ***Conclusion:*** *These results allow us to conclude that hospital mattresses may contain antimicrobial resistant microorganisms, which may be a hospital problem.*

Keywords

Beds; Drug resistance; Bacteria; Disinfection

REFERÊNCIAS

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Legislação e criação de um programa de prevenção e controle de infecção hospitalar (infecção relacionada à assistência à saúde - iras). Brasília; 1998. Versão 2004.
2. Ferreira AM, Barcelos LF, Rigotti MA, Andrade D, Andreotti JT, Almeida MG. Areas of hospital environment: A possible underestimated microbes reservoir? - Integrative review. Enferm: UFPE. Recife, 2013; 7: 4171-82.
3. Schaechter M, et al. Microbiologia: Mecanismos das Doenças Infecciosas. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
4. Ferreira AM, Andrade D, Almeida MTG, Cunha KC, Rigotti MA. Egg crater mattresses: a deposit of methicillin resistant Staphylococcus aureus?. Enferm: USP. 2011; 45(1): 161-6.
5. Koneman EW, Woods GL, Procop GW, Schreckenberger PC, Allen SD, Janda WM. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 6a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
6. Clinical and laboratory standards institute(CLSI) - Manual de Antibiograma. 2013; 32.
7. Carreiro, MA. Um estudo sobre a efetividade da higiene do leito do cliente: o cuidado de enfermagem para atividades preventivas relacionadas ao colchão. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado em Enfermagem] -Universidade Federal do Rio de Janeiro: 2012.
8. Mundim GJ, Dezena RA, de Oliveira AC, da Silva PR, Cardoso M, Pereira Gde A, et al. Evaluation of presence of Staphylococcus aureus on the beds of Hospital Escola's Intensive Care Unit, concerning the position on the mattress, before and after cleaning. Rev Soc Bras Med Trop. 2003;36(6):685-8. [Article in Portuguese]
9. Fujita K, Lilly HA, Kidson A, Ayliffe GA. Gentamicin resistant Pseudomonas aeruginosa infection from mattresses in a burns unit. Br Med J. 1981;283:219-20.
10. Pereira MR. Contaminação ambiental como fator de risco para trabalhador de atenção primária à saúde. Goiânia. Dissertação [Mestrado em Ciências da Saúde] -Universidade Federal de Goiás: 2015.
11. Machado AB. Resistência à meticilina mediada pelo gene mecA nos Staphylococcus ssp. coagulase negativa. Rio Grande do sul. Dissertação [Mestrado em Ciências Médicas] - Universidade Federal do Rio Grande do Sul: 2007.
12. Silva EP, Carreiro MA, Gomes RC. Metodologia para a identificação de Staphylococcus sp. na superfície do colchão da maca no pronto socorro. Pró-Univer SUS. 2016;07(3):15-9.
13. Van der Mee-Marquet N, Girard S, Lagarrigue F, Leroux I, Voyer I, Bloc D, et al. Multiresistant Enterobacter cloacae outbreak in an intensive care unit associated with therapeutic beds. Crit Care. 2006;10(1):405.
14. Robinson DA, Enright MC. Evolutionary models of the emergence of methicilin-resistant Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47(12):3926-34.
15. Cuevas O, Cercenado E, Vindel A, Guinea J, Sanchez-Conde M, Sanchez-Somolinos M, Bouza E. Evolution of the antimicrobial resistance of Staphylococcus spp. in Spain: five nationwide prevalence studies, 1986 to 2002. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(11):4240-5.
16. Mayer LE, Horner R. Avaliação da Prevalência e do Perfil de Sensibilidade de Staphylococcus spp. Coagulase Negativa Resistentes à Meticilina/Oxacilina no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) e Comparação de Testes para Detecção de Resistência. Saúde. Santa Maria. 2009; 35(2): 62-9.
17. Lago A, Fuentefria SR, Fuentefria DB. Enterobactérias produtoras de ESBL em Passo fundo, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Soc Bras Med Trop. 2010;43(4):430-34.
18. Zanconato RV, Pereira WKV, Abegg MA. Condição microbiológica de colchões hospitalares antes e após a sua desinfecção. Prática hospitalar. 2007;52:68-72.
19. Andrade D, Angerami ELS, Padavani CR. A bacteriological study of hospital beds before and after disinfection with phenolic disinfectant. Panam Salud Publica. 2000;7(3):179-84.
20. Silva NO, Ferraz PC, Silva ALT, Malvezzi CK, Poveda VB. Avaliação da técnica de desinfecção dos colchões de uma unidade de atendimento à saúde. Min Enferm. 2011;15(2):242-7.
21. Oliveira AC, Viana R, Damasceno QS. Contamination of hospital mattresses by microorganisms of epidemiological relevance: an integrative review. J Nurs UFPE on line., Recife, 7(1):236-45, Jan., 2013.
22. Kamwa EB. Biosseguridade, higiene e profilaxia: abordagem teórico-didática E aplicada. Belo Horizonte: Nandyala. 2010; p. 104.
23. Torres SC. Gestão dos serviços de limpeza, higiene e lavanderia em estabelecimentos de saúde. 3a ed. São Paulo: Sarvier; 2008.
24. Santos LR, Neto JFS, Rizzo NN, Bastiane PV, Rodrigues LB, Barcellos HAA, Brun MV. Contaminação ambiental em um hospital veterinário e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos das bactérias isoladas. Ciênc. Anim. Bras. Goiânia. 2010;11(2):384-89.
25. Patel R, Piper KE, Rouse MS, Uhl JR, Cockerill FR 3rd, Steckelberg JM. Frequency of isolation of Staphylococcus lugdunensis among staphylococcal isolates causing endocarditis: a 20-year experience. J Clin Microbiol. 2000;38(11):4262-3.

Correspondência

Eliandra Mirlei Rossi

Rua Oiapoc, 211 – Agostini

89900-000 – São Miguel do Oeste-SC, Brasil

Staphylococcus lugdunensis em hemoculturas: perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos

Staphylococcus lugdunensis *in blood cultures: susceptibility profile of antimicrobials*

Danielle Guimarães Araújo[1]
Marcelo Eduardo Ferreira Oliveira[2]
Sibele Ribeiro de Oliveira[3]

Resumo
Objetivo: Determinar o perfil de sensibilidade e resistência de antimicrobianos frente a *Staphylococcus lugdunensis* isolados de hemoculturas de um hospital de emergência. **Métodos:** Amostras de hemocultura foram aspiradas e semeadas no meio de cultura ágar Sangue de Carneiro. Foi realizado o teste de catalase para identificação do gênero *Staphylococcus* sp. e, para identificação fenotípica de espécies de interesse clínico, as amostras foram submetidas aos testes de DNase, Novobiocina e PYR. Para análise do perfil de sensibilidade e resistência, o antibiograma foi utilizado. **Resultados:** Das 95 hemoculturas analisadas, 92% mostraram crescimento bacteriano. Destas, 6% foram identificadas como *Staphylococcus lugdunensis*, mostrando-se resistentes a cefoxitina, eritromicina, clindamicina e tetraciclina. A sensibilidade ocorreu frente a nitrofurantoína e linezolida. **Conclusão:** O achado de *Staphylococcus lugdunensis* foi um dado relevante, uma vez que trabalhos envolvendo esta espécie são escassos. O *S. lugdunensis* é um patógeno emergente, com elevado potencial agressor. Dessa forma, sua correta identificação laboratorial, bem como o monitoramento do perfil de susceptibilidade e resistência, podem contribuir com um melhor direcionamento de medidas de controle da infecção, principalmente em hospitais.

Palavras-chave
Staphylococcus lugdunensis; Infecção hospitalar; Antibacterianos

INTRODUÇÃO

Os *Staphylococcus coagulase* negativa (SCN) estão entre os microrganismos Gram positivos mais frequentemente isolados no laboratório de microbiologia, fazendo parte da microbiota normal da pele e sendo muitas vezes considerados como colonizadores quando isolados a partir de amostras clínicas.[1,2] Seu significado clínico é difícil de se estabelecer, uma vez que são naturais da pele e membranas mucosas e têm sido considerados patógenos inócuos ou oportunistas de virulência variada. As infecções causadas por SCN, ao contrário daquelas produzidas por *Staphylococcus aureus*, manifestam-se como doenças menos graves ou subagudas, mais raramente associadas à mortalidade.[2]

O *Staphylococcus lugdunensis*, mesmo fazendo parte do grupo dos SCN, tem significativo potencial de virulência.[1,3] Desde que foi primeiro descrito em 1988, o *S. lugdunensis* vem sendo associado a casos de endocardite, infecção da pele, peritonite, abcesso cerebral, osteomielite, infecção vascular protética e septicemia, sendo as manifestações de pele e tecidos moles as mais comuns.[4-8] Sua patogenia é similar à do *S. aureus* pela presença de fatores de virulência em comum. Quanto aos baixos percentuais de isolamento desta bactéria, estes podem estar ligados ao fato de compartilharem semelhanças fenotípicas com *S. aureus*, o que pode dificultar a sua identificação.[9-11]

Esta limitação se deve ao fato de um percentual variável de isolados de *S. lugdunensis* reagir a testes rápidos de identificação, como a pesquisa do *clumping* factor, sendo positivos quando realizados os testes de coagulase em lâmina ou de aglutinação em látex. Por essa razão, outros testes laboratoriais fenotípicos são necessários para confirmar sua presença, como o teste de Pyrrolidonil arilamidase (PYR).[8,10-12]

[1]*Biomédica. Graduada pelo Centro Universitário Tabosa de Almeida Asces-Unita – Caruaru-PE, Brasil.*
[2]*Graduado. Centro Universitário Tabosa de Almeida Asces-Unita – Caruaru-PE, Brasil.*
[3]*Doutora em Ciências Biológicas – Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife-PE, Brasil.*

Instituição: Centro Universitário Tabosa de Almeida Asces-Unita – Caruaru-PE, Brasil.
Conflito de interesses: não há conflito de interesses

Artigo recebido em 03/07/2017
Artigo aprovado em 18/10/2017
DOI: 10.21877/2448-3877.201700592

O *S. lugdunensis* é ainda descrito como produtor de biofilme, uma matriz extracelular polimérica que facilita a adesão em superfícies, sendo que tal habilidade promove proteção contra a resposta imune do hospedeiro, bem como pode proporcionar maior resistência às doses de antimicrobianos normalmente utilizados.[9,10] Alguns relatos afirmam a produção de beta-lactamases por este patógeno, o que lhe confere resistência bacteriana significativa e maior importância clínica.[4,9-11]

Vale ressaltar que, em alguns casos, o *S. lugdunensis* pode apenas representar a contaminação da hemocultura; entretanto, a correta distinção entre os *S. lugdunensis* e as demais espécies pode contribuir na tomada de decisões quanto ao tratamento antimicrobiano mais adequado, dadas as diferenças nos limites de susceptibilidade, características clínicas e manejo terapêutico entre as cepas.[6,14]

Este trabalho teve por objetivo avaliar o perfil de sensibilidade e resistência aos antimicrobianos de *Staphylococcus lugdunensis* isolados de hemoculturas em um hospital de emergência no Agreste de Pernambuco, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo laboratorial descritivo transversal, que analisou as hemoculturas obtidas do laboratório de patologia clínica de um hospital de emergência, na cidade de Caruaru, Agreste Pernambucano, no período de abril a outubro de 2015. A pesquisa foi iniciada após a aprovação pelo Comitê de Ética (Número do parecer: 1.256.386) do Centro universitário Tabosa de Almeida Asces-Unita.

As amostras de hemoculturas foram devidamente encaminhadas, em condições ideais de transporte, do laboratório de patologia clínica do hospital de emergência para o laboratório de microbiologia da Asces-Unita para os procedimentos microbiológicos necessários.

Com o auxílio de uma seringa de 3 mL, foram aspirados cerca de 0,25 mL da amostra de sangue das hemoculturas, semeados por esgotamento nos meios de cultura ágar Sangue de Carneiro e ágar MacConkey para visualização macroscópica das cepas. As placas foram incubadas em estufa a 35º-37ºC por 18 a 24 horas. Foram realizados esfregaços, posteriormente corados pelo método de Gram para confirmação microscópica.

O teste de catalase foi utilizado nas amostras que apresentaram crescimento apenas em ágar Sangue de Carneiro para identificação do gênero *Staphylococcus* sp. Em caso de positividade, a amostra foi semeada em ágar DNase e incubada em estufa microbiológica a 35°-37°C por 18 a 24 horas para verificação da positividade da espécie *Staphylococcus aureus*. Caso não houvesse a formação de uma zona transparente ao redor da área de crescimento no Ágar DNase, o teste da novobiocina era realizado, onde a resistência deste determinava tratar-se de um *Staphylococcus saprophyticus*. No caso de sensibilidade à novobiocina, o teste de PYR (pyrrolidonil arilamidase) era realizado para diferenciação da espécie *Staphylococcus lugdunensis* entre as demais cepas de *Staphylococcus coagulase* negativa.

Para a realização do teste de PYR, o disco impregnado com L-pyrrolidonil-B-naftilamida foi colocado sobre uma lâmina e foi adicionada uma gota de água destilada estéril. Em seguida, era realizado o esfregaço com a bactéria a ser testada, sobre o disco de PYR umedecido. Após alguns minutos, era acrescentada uma gota do reativo de PYR. A reação positiva, com o desenvolvimento de cor vermelha no disco, identificava a cepa como sendo um *Staphylococcus lugdunensis.* (Figura 1)

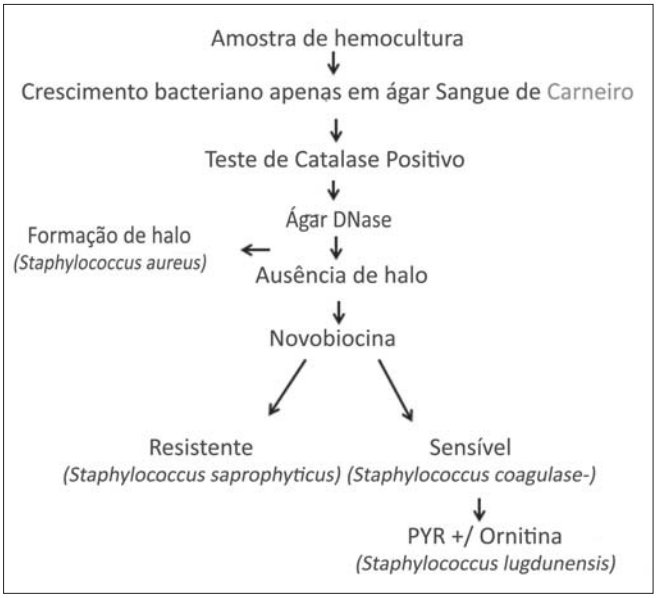

Figura 1. Fluxograma simplificado de isolamento e identificação fenotípica de Staphylococcus lugdunensis.

As amostras, uma vez identificadas, foram submetidas ao antibiograma pela técnica de difusão em disco de Bauer e Kirby,[15] para análise do perfil de sensibilidade aos principais antibióticos de uso contra essas cepas e verificação da presença de possível resistência bacteriana. Para a realização do ensaio, inoculou-se a suspensão da bactéria em teste, ajustada ao padrão de 0,5 na escala de McFarland, sobre a superfície da placa de ágar Mueller-Hinton. Posteriormente, foram colocados discos de antimicrobianos e as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a uma temperatura de 35-37ºC por 18 a 24 horas, sendo todo o procedimento realizado de maneira estéril.

O método foi realizado seguindo as recomendações do CLSI 2015,[16] assim como a escolha dos discos de antimicrobianos utilizados.

RESULTADOS

Do total de 95 hemoculturas analisadas, 87 (92%) mostraram crescimento bacteriano. Entre as bactérias identificadas, 60 (72%) foram classificadas como sendo do gênero *Staphylococcus* sp., com um quantitativo de quatro (6%) de *Staphylococcus lugdunensis* (Figura 2).

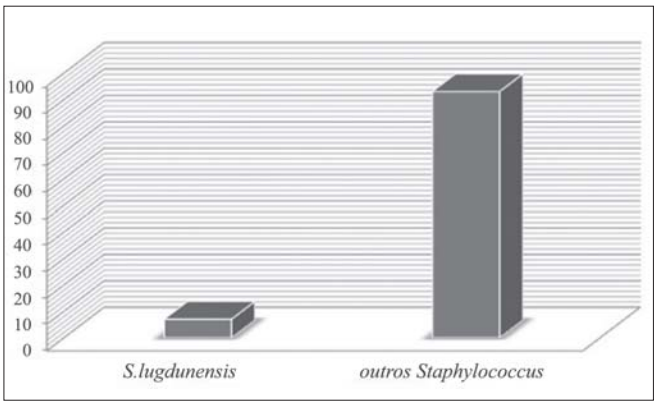

Figura 2. Prevalência do Staphylococcus lugdunensis *e dos demais microrganismos Gram positivos.*

No que diz respeito ao perfil de sensibilidade e resistência aos antimicrobianos utilizados contra estes microrganismos, foi mostrado que as cepas de *Staphylococcus lugdunensis* apresentaram resistência significativa à cefoxitina, eritromicina, clindamicina e tetraciclina, e sensibilidade à nitrofurantoína e linezolida (Tabela 1).

Tabela 1 - Perfil de sensibilidade e resistência de Staphylococcus lugdunensis isolados a partir de hemoculturas em um hospital de emergência em Caruaru - PE

Antibióticos	Resistência	Sensibilidade
Cefoxicitina	100%	0%
Eritromicina	100%	0%
Clindamicina	100%	0%
Norfloxacina	75%	25%
Nitrofurantoína	0%	100%
Cloranfenicol	25%	75%
Tetraciclina	100%	0%
Linezolida	0%	100%

DISCUSSÃO

O achado de *Staphylococcus lugdunensis* foi um dado importante, tendo em vista que trabalhos envolvendo esta espécie são escassos. A bactéria, apesar de detectada com menos frequência, apresenta importância clínica, com um perfil de virulência, entre os SCN, bastante próximo ao perfil dos *Staphylococcus aureus*, sendo considerado um patógeno emergente responsável por diversos tipos de infecções, que vão desde infecções superficiais na pele até endocardites com risco de vida.[2,7,9,12,17]

Dentre todas as amostras do gênero *Staphylococcus* encontradas em nosso estudo, 6% corresponderam à espécie *S. lugdunensis*, uma quantidade inferior à encontrada por Fadel et al.,[7] que detectaram o patógeno em 45% das amostras e, com esse achado, reforçam a necessidade dos laboratórios clínicos ficarem atentos aos isolados de SCN na perspectiva da possibilidade de isolamento de *S. lugdunensis*, não relacionando-o necessariamente a um organismo contaminante.

Segundo Fariña et al.,[14] em um estudo realizado com amostras clínicas de pacientes hospitalizados em ambulatório, o *S. lugdunensis* demonstrou uma resistência baixa a tetraciclina (0%), eritromicina (10%) e clindamicina (10%). Da mesma forma, os dados do estudo realizado por Tan et al.,[19] a partir de amostras clínicas, divergem dos dados encontrados neste estudo, demonstrando uma baixa taxa de resistência frente a tetraciclina (11,3%), eritromicina (1,8%), clindamicina (1,8%) e cefoxitina (4,7%). Estes fatos não corroboram com o presente trabalho, onde o microrganismo apresentou resistência total (100%) a estes antibióticos.

Os dados apresentados no estudo de Byrnes et al.[18] também divergem dos nossos quanto ao perfil de susceptibilidade frente a clindamicina, onde demonstrou uma maior taxa de sensibilidade (68%) em isolados hospitalares.

Os beta-lactâmicos constituem a família mais numerosa de antibióticos e a mais utilizada na antibioticoterapia. Este grupo de antimicrobianos possui em comum no seu núcleo estrutural o anel beta-lactâmico, conferindo a ele atividade bactericida, sendo usados para tratar um largo espectro de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.[12,13,18,20]

Alguns estudos têm demonstrado que a resistência do *S. lugdunensis* frente a esse grupo de antibióticos costuma ser infrequente, como relatado por Pereira et al.[13] em sua breve revisão, onde o mesmo ressalta as características microbiológicas e o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos frente ao *S. lugdunensis*, enfatizando que quase todas as cepas costumam ser sensíveis.

Porém, o aparecimento progressivo dos diversos tipos de resistência tem limitado o seu uso e a sua eficácia em determinadas situações. Em nosso estudo, a resistência aos beta-lactâmicos foi evidente, uma vez que as cepas apresentaram resistência total a 50% dos antibióticos testados. O desenvolvimento de mecanismos de resistência pode ser explicado pela produção de beta-lactamases, modificações estruturais das proteínas ligadoras de penicilina (PLP) ou diminuição da permeabilidade bacteriana ao antibiótico por mutação das porinas.[13,20]

Para entender a relevância clínica do *S. lugdunensis* em infecções e fornecer dados para controle e medidas epidemiológicas, é crucial a detecção e identificação confiáveis deste organismo. Vale salientar a importância da diferenciação entre os demais SCN e o *S. lugdunensis*, pois caso se trate deste último, o mesmo apresenta pontos de corte para interpretação do antibiograma, semelhantes aos preconizados para *S. aureus* e diferentes dos utilizados para os outros SCN. Sendo assim, identificações bacterianas fenotípicas errôneas de amostras clínicas podem acarretar no agravamento do quadro clínico de pacientes hospitalizados.[13,17]

CONCLUSÃO

O achado de *Staphylococcus lugdunensis* foi um dado relevante, uma vez que trabalhos envolvendo esta espécie são escassos. Apesar de menos frequente quando comparado aos demais do gênero *Staphylococcus*, o *S. lugdunensis* é um patógeno emergente com elevado potencial agressor.

Dessa forma, sua correta identificação laboratorial, bem como o monitoramento do perfil de sensibilidade e resistência, podem contribuir para um melhor direcionamento de medidas de controle da infecção e uso racional dos antibióticos em hospitais, minimizando assim a perda da eficácia da antibioticoterapia. Estudos como este, realizados periodicamente no ambiente hospitalar, podem auxiliar no controle das taxas de resistência, tendo em vista que dados microbiológicos orientam na escolha de uma terapêutica mais adequada para cada paciente.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Microbiologia do Hospital Regional do Agreste, pela disponibilidade das hemoculturas analisadas, e ao Centro Universitário Tabosa de Almeida Asces-Unita, pelo apoio financeiro e disponibilidade da infraestrutura do Laboratório Escola da Instituição.

Abstract

Objective: *To determine the sensibility and resistance profile of sensitivity and resistance of antimicrobials in front of* Staphylococcus Lugdunensis *isolated in blood cultures from an emergency hospital.* ***Methods****: Blood culture samples were aspirated and seeded in Blood sheep agar. The catalase test was performed to identify the genus* Staphylococcus *sp. and for the phenotypic identification of species of clinical interest, the samples were submitted to DNase, Novobiocin and PYR tests. For the analysis of the sensitivity and resistance profile, the antibiogram was used.* ***Results:*** *From the 95 blood cultures analyzed, 92% showed bacterial growth. Of these, 6% were identified as* Staphylococcus lugdunensis*, showing resistant to cefoxitin, erythromycin, clindamycin and tetracycline. Sensitivity has occurred front the nitrofurantoin and linezolid.* ***Conclusion:*** *The finding of* Staphylococcus lugdunensis *was a very important data, since works involving this species are scarce.* S. lugdunensis *is an emerging pathogen with high aggressive potential. Thus, its correct laboratory identification, as well as the monitoring of the susceptibility and resistance profile, can contribute with a better targeting of infection control measures, especially in hospitals.*

Keywords

Staphylococcus lugdunensis; *Cross infection; Antibacterial*

REFERÊNCIAS

1. Bellamy R, Barkham T. Staphylococcus lugdunensis infection sites: predominance of abscesses in the pelvic girdle region. Clin Infect Dis. 2002;35:32-E34.
2. Sanchez AC, Flores J, Martín JM, Noria JA, Gordillo A, Hernandéz B, et al. Endocarditis infecciosa nosocomial sobre válvula nativa mitral por Staphylococcus lugdunensis. Rev Chil Cardiol. 2014; 33:147-51.
3. Liu PY, Huang YF, Tang CW, Chen YY, Hsieh KS, Ger LP, et al. Staphylococcus lugdunensis Infective Endocarditis: A Literature Review and Analysis of Risk Factors. J Clin Microbiol. 2010; 43(6):478-84.
4. Choi SH, Chung JW, Lee EJ, Kim TH, Lee MS, Kang JM, et al. Incidence, characteristics, and outcomes of Staphylococcus lugdunensis bacteremia. J Clin Microbiol. 2010;48(9):3346-9.
5. Böcher S, Tonning B, Skov RL, Prag J. Staphylococcus lugdunensis, a common cause of skin and soft tissue infections in the community. J Clin Microbiol. 2009;47:946 -50.
6. Shah NB, Osmon DR, Fadel H, Patel R, Kohner PC, Steckelberg JM, et al. Laboratory and Clinical Characteristics of Staphylococcus lugdunensis Prosthetic Joint Infections. J Clin Microbiol. 2010;48(5): 1600-03.
7. Fadel HJ, Patel R, Vetter EA, Baddour LM. Clinical Significance of a Single Staphylococcus lugdunensis-Positive Blood Culture. J Clin Microbiol. 2011;49(4):1697-99.
8. Lourtet-Hascoët J, Bicart-See A, Félicé MP, Giordano G, Bonnet E. Staphylococcus lugdunensis, a serious pathogen in periprosthetic joint infections: comparison to Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis. Int J Infect Dis 2016; 51:56-61.
9. Koch LD, Knoll F, Hartmann G, Lhotta K. Recurrent exit-site infection due to Staphylococcus lugdunensis-a virulent coagulase negative Staphylococcus. Perit Dial Int. 2011;31:372-3.
10. Argemi X, Prévost G, Riegel P, Keller D, Meyer N, Baldeyrou M, et al. VISLISI trial, a prospective clinical study allowing identification of a new metalloprotease and putative virulence factor from Staphylococcus lugdunensis. Clin Microbiol Infect 2017; 23(5): e1-e8.
11. Argemi X, Hansmann Y, Riegel P, Prévost G. Is Staphylococcus lugdunensis significant in clinical samples? J Clin Microbiol. 2017. J Clin Microbiol. 2017;55(11):3167-74.
12. Silveira ACO, D'Azevedo PA. Staphylococcus lugdunensis: um olhar diferenciado no laboratório clínico. J Bras Patol Med Lab. 2011; 47:151-6.
13. Pereira MFB, Carvalho RLB, Massaia IFDS, Mimica MJ. Staphylococcus lugdunensis: um patógeno emergente em humanos. Arq Med Hosp Fac Cienc Med. 2013;58(3):151.
14. Fariña N, Carpinelli L, Samudio M, Guillén R, Laspina F, Sanabria R, et al. Staphylococcus coagulasa-negativa clínicamente significativos. Especies más frecuentes y factores de virulência. Rev Chil Infectol. 2013;30 (5):480-8.
15. Piaskowski CA, Yamanaka EHU, Romanel M. Manual para antibiograma. Técnica de difusão por disco. Laborclin produtos para laboratórios ltda. Pinhais - PR. Maio, 2007.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.Twenty-Second Informational Supplement M100-S22, 2015;35(3).

17. Pereira EM, Oliveira FL, Schuenck RP, Zoletti GO, dos Santos KR. Detection of Staphylococcus lugdunensis by a new species-specific PCR based on the fbl gene. FEMS Immunol Med Microbiol. 2010;58(2):295-8.
18. Byrnes TJ, Rose BT, Myers NM, Myers J. Staphylococcus lugdunensis Bacteremia in Adults in a Large Community Teaching Hospital. Report of 29 Episodes and Review of its Epidemiology, Microbiology, Clinical Manifestations, and Treatment. J Medical Microbiol Diagnosis. 2014; S2.
19. Tan TY, Ng SY, He J. Microbiological characteristics, presumptive identification, and antibiotic susceptibilities of Staphylococcus lugdunensis. J Clin Microbiol. 2008;46(7):2393-5.
20. Cooke RP, James SE, Sallomi DF. Infective discitis due to Staphylococcus lugdunensis-a case of missed opportunity. Br J Biomed Sci 2003;60(3):162-4.

Correspondência
Danielle Guimarães Araújo
Avenida Portugal nº 584, Bairro Universitário
55016-400 – Caruaru-PE, Brasil
Fone: (81) 2103-2000

Perfil de sensibilidade antimicrobiana em urinoculturas de um hospital universitário do estado do Ceará no período de janeiro a junho de 2015

Antimicrobial sensitivity profile of urine cultures of a university hospital of the Ceará State in the period of January to June 2015

Darcielle Bruna Dias Elias[1]
Adriana Claudia de Sousa Ribeiro[2]

Resumo
Objetivo: Caracterizar o perfil dos principais microrganismos isolados estabelecendo uma relação dos antimicrobianos com melhor sensibilidade e maior resistência para os microrganismos mais prevalentes. **Métodos:** Realizou-se um estudo retrospectivo quantitativo baseado na análise do banco de dados. A pesquisa incluiu todos os indivíduos com uroculturas positivas realizadas nos meses de janeiro a junho de 2015 para a prevalência dos isolados. Os microrganismos isolados foram identificados e avaliados quanto à sensibilidade antimicrobiana por meio do equipamento Vitek II Compact (Biomérieux). **Resultados:** Observou-se uma prevalência de infecção do trato urinário (ITU) em indivíduos do sexo feminino. Os bacilos Gram-negativos foram os principais agentes causadores de ITU, principalmente as enterobactérias; destas, a mais prevalente foi *Escherichia coli* com o índice de 39,10% . Quanto à resistência encontramos nos Gram-positivos uma maior taxa de resistência, frente aos antibióticos testados, o *Staphylococcus saprophyticus* com 100% no ácido fusídico, penicilina e ampicilina e 83% frente à eritromicina. Nos Gram-negativos encontramos as *Pseudomonas*, como microrganismos mais resistentes frente a todos os antimicrobianos testados, restando somente a amicacina com 80% de sensibilidade e ertapenem como melhor indicativo de tratamento. **Conclusão:** Conclui-se que o monitoramento da resistência e o estudo do perfil de sensibilidade das bactérias patogênicas contribuem com o acompanhamento farmacoterapêutico dos pacientes.

Palavras-chave
Antibacterianos; Testes de sensibilidade; Disco-difusão; Prevalência; Infecções urinárias

INTRODUÇÃO

O sistema urinário é composto por órgãos que regulam a composição química e o volume de sangue. Pela necessidade de um acesso ao ambiente externo, esse sistema fica susceptível às infecções por exposição a esse ambiente. Quando comparado à pele, o sistema urinário, por ser recoberto por membranas mucosas úmidas, torna-se mais susceptível ao crescimento de bactérias.(1)

As infecções urinárias podem ser definidas como invasão e multiplicação de microrganismos nos tecidos do sistema urinário, podendo ser classificadas, quanto à topografia, em:

a) altas – que envolvem o parênquima renal (pielonefrite) ou ureteres (uretrites) (2)

b) baixas – que envolvem a bexiga (cistite), ureteres (uretrites), e, nos homens, a próstata (prostatite) e o epidídimo (epididimite)(2)

A diferença destes dois grupos (altas ou baixas) é importante tanto do ponto de vista de conduta como do prognóstico. Enquanto há necessidade de tratamento imediato para o primeiro grupo (altas), para o segundo grupo (baixas) não implica necessariamente tratamento, pois cerca de 25% delas passam espontaneamente, observando-se resultados negativos de uroculturas no período de um ano. Esse grupo geralmente é constituído de meninas em idade escolar (1% a 2%) e de mulheres jovens com vida sexual ativa (5%), sendo que existe grande probabilidade de desenvolverem ITU no futuro. Um grupo que merece seguimento pelo elevado risco de ITU são as gestantes, idosos

[1]*Doutorado. Universidade Federal do Ceará – Fortaleza-CE, Brasil.*
[2]*Graduada em Farmácia pela Faculdade de Ensino e Cultura do Ceará – FAECE – Fortaleza-CE, Brasil.*

Instituição: Hospital Universitário Walter Cantídeo – Universidade Federal do Ceará – Fortaleza-CE, Brasil.

Artigo recebido em 13/05/2017
Artigo aprovado em 18/10/2017
DOI: 10.21877/2448-3877.201700580

e pacientes cateterizados, identificados com bacteriúria assintomática.[2]

Os sintomas incluem disúria (dificuldade, dor e urgência para urinar) e piúria (quantidade de bactérias aumentadas na urina). O risco dessas infecções é que elas podem evoluir migrando para os ureteres e afetar os rins, causando pielonefrite, uma inflamação de um ou de ambos os rins; os sintomas incluem febre e dores nas costas. No sexo feminino é mais frequente a complicação das infecções do trato urinário inferior ou cistite evoluírem para uma pielonefrite pelo fato de a uretra feminina ter menos de 5 cm de comprimento, e, por isso, os microrganismos a atravessam facilmente; além disso, há também a proximidade com o ânus e seus contaminantes. Essas considerações refletem o fato de que a taxa de infecção do sistema urinário em mulheres é cerca de oito vezes maior que em homens. *Escherichia coli* está presente em ambos os sexos.[1]

Dentre os mecanismos que contribuem para a esterilidade do trato urinário estão: o fluxo de urina; o pH ácido (5,5); a baixa osmolaridade; a presença de ureia e ácidos orgânicos fracos na urina são fatores que corroboram na inibição do desenvolvimento bacteriano. Entretanto, quando a mucosa do trato urinário sofre algum tipo de lesão, o pH e a osmolaridade da urina podem ser alterados (devido à inserção de instrumentos como o uso de cateteres) e durante a gravidez.[3]

O gênero *Candida* colabora para infecções do trato urinário causadas por fungos. *Candida albicans* é o fungo mais frequentemente encontrado nas urinoculturas, particularmente em pacientes diabéticos não tratados ou em indivíduos imunodeprimidos.[3]

A ITU é responsável por 35% a 45% de todas as infecções adquiridas no hospital, sendo essa a causa mais comum de infecção nosocomial. Dos pacientes que são hospitalizados, mais de 10% são expostos temporariamente à cateterização vesical de demora, sendo esse o fator isolado mais importante, pois predispõe esses pacientes à infecção do trato urinário.[3]

Pacientes internados desenvolvem ITU com mais frequência que pacientes ambulatoriais, tendo em vista as condições gerais da internação desses pacientes e a alta probabilidade de instrumentação do trato urinário, que são os maiores contribuintes para esta diferença. A importância da ITU hospitalar está na sua elevada frequência e, principalmente, por ser considerada a principal causa de bacteremia por Gram-negativo, considerado o maior disseminador das infecções hospitalares.[2,3]

A urocultura é considerada padrão-ouro no diagnóstico de ITU.[4] A infecção urinária é caracterizada pelo crescimento bacteriano de, no mínimo, 100 mil unidades formadoras de colônia (UFC) por mililitro de urina, sendo a urina colhida em jato médio e de maneira asséptica.[5] O conhecimento epidemiológico das ITUs e do padrão de sensibilidade/resistência dos agentes causais cresce em importância diante da falha no tratamento empírico. O teste de sensibilidade a antimicrobianos orienta a conduta terapêutica. A prevalência de resistência bacteriana aos antibióticos nas infecções comunitárias vem crescendo e esse crescente aumento de bactérias multirresistentes aos antimicrobianos representa um desafio no tratamento das infecções.[6]

O perfil de resistência bacteriana local contribui na escolha dos antimicrobianos, considerando a eficácia clínica ante um determinado grupo de bactérias, a prevalência de resistência local e os custos.[7] Estas avaliações têm sido úteis no controle de infecção tanto comunitária como hospitalar. Entretanto, estudos não recomendam a utilização de um determinado fármaco na terapia empírica quando a sua taxa de resistência local for superior a 20%.[8]

A resistência bacteriana aos antibióticos pode ser considerada uma manifestação natural devido ao processo evolutivo da adaptação genética de organismos que se alteram no seu próprio meio ambiente. Pode ocorrer naturalmente em consequência de vários fatores, como ausência de sítio específico, impermeabilidade da membrana ou parede celular para que o fármaco possa atuar; também pode ocorrer resistência adquirida, onde normalmente o microrganismo sensível a determinado fármaco torna-se resistente, adquirindo uma nova característica bacteriana de nova espécie.[3]

Algumas enterobactérias adquirem resistência por transmitirem seu material genético através dos plasmídeos, como é o caso da *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, desenvolvendo a capacidade de produzir bombas de resistência a múltiplos fármacos, as quais permitem bombear o fármaco para fora da célula bacteriana antes que ela possa ser destruída. Outro processo pelo qual ocorre resistência aos antibióticos, especificamente aos beta-lactâmicos, é a produção de beta-lactamases, enzima responsável pela perda da ação do antibiótico, como também pela ausência de receptores de penicilinas (PLPs), falta de ativação das enzimas autolíticas na parede celular e incapacidade de sintetizar peptidoglicano. Na intenção de combater os efeitos das beta-lactamases foram produzidos fármacos com inibidor para essa enzima, o qual se liga irreversivelmente à enzima, favorecendo a ação do antibiótico.[3]

Considerando a importância de todos esses aspectos, o presente trabalho tem por objetivo estudar os principais microrganismos encontrados, sua distribuição segundo o sexo e o perfil de sensibilidade antimicrobiano em urinoculturas dos pacientes no Hospital Universitário Walter Cantídio no período de janeiro a junho de 2015.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento do estudo e coleta de dados

Realizou-se um estudo retrospectivo de caráter descritivo, transversal, com abordagem quantitativa. A presente pesquisa avaliou o perfil de sensibilidade de todas as amostras de urinoculturas positivas analisadas no período de janeiro a junho de 2015 no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC). Os resultados foram retirados de relatórios diários, no laboratório de Análises Clínicas do HUWC. Foram excluídas da pesquisa amostras não identificadas ou coletadas em recipientes inadequados. Os resultados das amostras positivas foram retirados do equipamento Vitek II Compact (Biomérieux). Todas as amostras analisadas eram de pacientes atendidos nas unidades assistenciais da área hospitalar

O presente estudo avaliou os dados das amostras de uroculturas enviadas ao laboratório de microbiologia do Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará, no período de janeiro a junho de 2015, seguindo orientações adequadas de coleta e acondicionamento desse tipo de material. As amostras foram semeadas em meio de cultura cromogênio ágar (CPS) e incubadas a 37ºC em estufa por até 48 horas. Observou-se o possível crescimento de microrganismos nas primeiras 24 horas. Quando os microrganismos são significativos, as amostras já seguem para identificação e TSA (Teste de sensibilidade a antibióticos). Caso contrário, são reincubadas por mais 24 horas.

Processamento das amostras

As amostras foram coletadas seguindo as orientações de assepsia da região genital na intenção de eliminar contaminações do material enviado ao laboratório de microbiologia; a coleta foi realizada através de jato médio em frascos assépticos, preferencialmente pela manhã, quando há maior possibilidade de se concentrar a urina por permanecer um período maior na bexiga, ou, se a amostra for coletada no decorrer do dia, orientou-se o paciente a permanecer no mínimo por duas horas sem urinar.

Foram consideradas positivas as amostras que apresentarem 100.000 UFC/mL ou mais. Foram avaliados também casos especiais como nos pacientes transplantados e/ou imunocomprometidos com amostras apresentando aproximadamente 30.000UFC/mL. As bactérias foram identificadas de acordo com as normas recomendadas pela Sociedade Americana de Microbiologia.

Identificação dos isolados

Os microrganismos isolados foram identificados e avaliados quanto à sensibilidade antimicrobiana através do equipamento Vitek II Compact (Biomérieux). Para determinação e interpretação dos resultados seguiram-se todas as normativas estabelecidas pelo Clinical Laboratory Standards Institute - CLSI, 2015.

Os dados analisados foram realizadas por meio do Microsoft® Office®Excel.

A pesquisa seguiu todos os preceitos éticos conforme a Resolução 466/2012. Foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Clínica (CEP) do Hospital Universitário Walter Cantídio sob protocolo de número: 021.03.16

Número de amostras

As amostras foram contabilizadas de acordo com os pacientes cadastrados no laboratório com solicitações de exames de uroculturas recebidas no setor de microbiologia, totalizando 3.456 uroculturas nesse período, sendo 592 com resultados positivos, 2.447 negativos e 417 contaminados.

Foram incluídas todas as amostras de uroculturas que possuíam microrganismos isolados sem contaminações e que puderam ser identificados.

Foram excluídas da pesquisa todas as amostras de uroculturas contaminadas, tendo como avaliação de contaminação a quantidade e crescimento de microrganismos diferentes na mesma amostra, impossibilitando o isolamento de bactérias para posterior identificação.

RESULTADOS

Foram realizadas 3.456 uroculturas no Laboratório de Microbiologia do Hospital Universitário Walter Cantídio, no período de janeiro a junho de 2015, sendo 592 (17,20%) positivas, 2.447(70,80%) negativas e 417 (12,0%) contaminadas. (Tabela 1)

Tabela 1 - Distribuição dos resultados de todas as amostras de uroculturas analisadas

Resultados	N	%
Positivo	592	17,2
Negativo	2447	70,8
Contaminada	417	12,0
Total	3.456	100

Fonte: Dados produzidos pelo próprio autor

Os microrganismos mais isolados estão distribuídos no Gráfico 1, tendo como maior frequência a *Escherichia coli* (39,10%) e *Klebsiella pneumoniae* (15,90%), seguidas da *Proteus mirabilis* (5,30%), *Enterococcus faecalis* (5,20%), *Candida tropicalis* (3,50%), *Streptococcus agalactiae* (3,50%), *Pseudomonas aeruginosa* (3,30%), *Candida glabrata* (3,20%), E*nterobacter cloacae complex* (2,30%), *Staphylococcus saprophyticus* (2,0%), *Acinetobacter baumannii* (1,80%), *Morganella morganii ssp* (1,50%), *Candida parapsilosis* (1,0%), *Staphylococcus*

aureus (1,0%). Os outros microrganismos restantes (7,3%) correspondem a *Acinetobacter haemolyticus* (0,3%), *Acinetobacter junii* (0,2%), *Acinetobacter lwoffii* (0,3%), *Candida lusitaniae* (0,5%), *Citrobacter freundii* (0,2%), *Citrobacter koseri* (0,2%), *Cryptococcus laurentii* (0,2%), *Cryptococcus neoformans* (0,2%), *Enterobacter aerogenes* (0,8%), *Enterobacter cloacae ssp cloacae* (0,2%), *Enterococcus faecium* (0,8%), *Enterococcus hirae* (0,2%), *Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae* (0,2%), *Providencia stuartii* (0,2%), *Pseudomonas putida* (0,5%), *Salmonella group* (0,2%), *Serratia marcescens* (0,3%), *Sphingomonas paucimobilis* (0,2%), *Staphylococcus epidermidis* (0,2%), *Staphylococcus haemolyticus* (0,2%), *Staphylococcus hominis ssp hominis* (0,5%), *Stenotrophomonas maltophilia* (0,5%), *Stephanoascus ciferrii* (0,2%).

Devido à baixa frequência de alguns microrganismos que foram isolados, foram selecionados os 14 mais frequentes. (Gráfico 1)

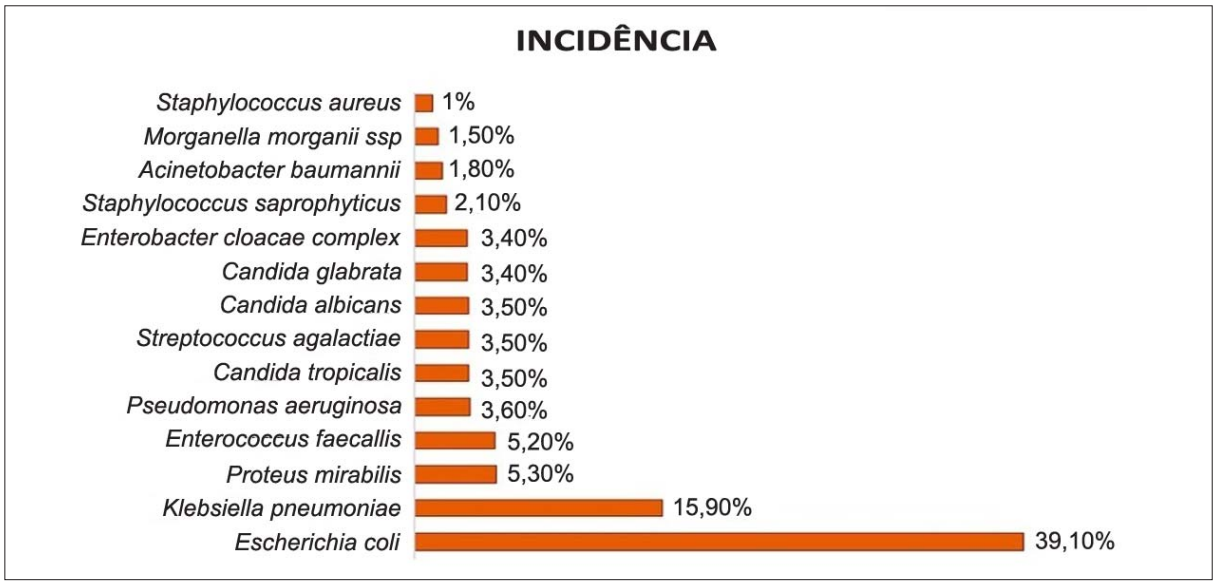

Gráfico1. Prevalência dos microrganismos isolados nas uroculturas.
Fonte: Dados produzidos pelo próprio estudo

A Tabela 2 nos mostra a distribuição dos pacientes com ITU segundo o sexo e o microrganismo. Nela podemos observar a prevalência da *Escherichia coli,* seguida da *Klebsiella pneumoniae* em ambos os sexos; logo depois temos a *Candida ssp*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus agalactiae, Enterococcus faecalis* no sexo feminino; no sexo masculino só altera a prevalência da *Morganella morganii ssp.*

Dos microrganismos analisados, 415 (74%) foram isolados de pacientes do sexo feminino e 144 (26%) do sexo masculino (Gráfico 2).

Nas culturas com crescimento bacteriano significativo foi realizado o teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA), utilizando as classes de antimicrobianos padronizadas, segundo o CLSI, para os microrganismos isolados.

A Tabela 3 mostra os cocos Gram-positivos mais frequentes na ITU e, em relação à sua resistência, observamos que, para o ácido fusídico, a resistência foi encontrada apenas no *Staphylococcus saprophyticus* (100,0%). Já para os aminoglicosídeos, estreptomicina (47%) e gentamicina (23%), observamos apenas resistência ante *Enterococcus faecalis*, tendo a clindamicina a maior taxa de resistência – 100%.

Tabela 2: Distribuição dos pacientes com ITU segundo o sexo e o microrganismo isolado.

Microrganismos	Total de isolados	Sexo	
	Nº (%)	M	F
Acinetobacter baumannii	11 (1,8)	9	2
Candida ssp	67 (12,0)	45	22
Enterobacter cloacae complex	19 (3,4)	9	10
Enterococcus faecalis	31 (5,2)	17	14
Escherichia coli	235 (39)	194	41
Klebsiella pneumoniae	96 (15,9)	68	28
Morganella morganii ssp	9 (1,5)	3	6
Proteus mirabilis	32 (5,3)	23	9
Pseudomonas aeruginosa	20 (3,6)	11	9
Staphylococcus aureus	6 1,2	4	2
Staphylococcus saprophyticus	12 2,1	12	0
Streptococcus agalactiae	21 3,5	20	1
Total	559 (100)	415	144

Em relação à classe dos beta-lactâmicos tivemos maior taxa de resistência para penicilina (100%) para os isolados de *Staphylococcus saprophyticus*, e, para os isolados de *Enterococcus faecalis*, tivemos a ampicilina (16%) seguida da penicilina (13%).

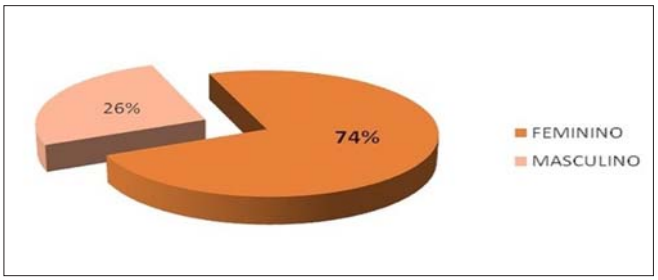

Gráfico 2. Incidência de ITUs distribuídas por sexo.
Fonte: Dados produzidos pelo próprio estudo

Na clindamicina, as taxas de resistência ante os cocos Gram-positivos foram mais elevadas, sendo 100% para os isolados de *Enterococcus faecalis*, seguida de 29% ante as cepas de *Streptococcus agalactiae* e 17% ante as cepas de *Staphylococcus saprophyticus*. Das quinolonas testadas, a norfloxacina foi a que apresentou maiores taxas de resistência, tendo o *Streptococcus agalactiae* 100%, seguido do *Enterococcus faecalis* com 40%; esta cepa também teve resistência à ciprofloxacina (17%) seguida da voxifloxacina (16%).

Tabela 3 - Percentual de resistência dos cocos Gram-positivos mais frequentes

% de Isolados Resistentes a	Bactérias / N de Isolados		
	Enterococcus faecalis	*Streptococcus agalactiae*	*Staphylococcus saprophyticus*
	31	21	12
Ácido Fusidico	0	0	100
Estreptomicina 300µg/mL - Sinergismo	47	0	0
Gentamicina 120µg/mL - Sinergismo	23	0	0
Resistência induzida a clindamicina	100	100	8
Ampicilina	16	0	100
Oxacilina	0	0	8
Penicilina	13	0	100
Teicoplanina	3	5	0
Vancomicina	3	0	0
Teste de *screening* de cefoxitina	0	0	9
Clindamicina	100	29	17
Eritromicina	83	14	83
Linezolida	3	0	0
Ciprofloxacina	17	0	0
Moxifloxacina	16	0	0
Norfloxacina	40	100	0
Rifampicina	0	0	0
Tigeciclina	0	0	0

No Gráfico 3 representamos os grupos de microrganismos estudados, onde as enterobactérias representaram 59,20%, os cocos Gram-positivos representaram 12,50%, as leveduras 12,0% e os bacilos Gram-negativos não fermentadores de glicose corresponderam a 16,30% .

De acordo com a Tabela 4, representando as bactérias Gram-negativas mais frequentes frente aos antimicrobianos testados, foi verificado o perfil de resistência. Podemos observar que, da classe dos aminoglicosídeos, o microrganismo encontrado mais resistente foi a *Pseudomonas aeruginosa*, sendo que a gentamicina (60%) apresentou a maior resistência em relação à amicacina (20%) frente a esse microrganismo.

Em relação aos beta-lactâmicos, a ampicilina/sulfabactam, uma aminopenicilina associada contra cepas produtoras de beta-lactamases, apresentou maior resistência ante os microrganismos isolados *Proteus mirabilis* (100%), *Pseudomonas aeruginosa* (100%), *Morganella morganii* (100%), *Enterobacter aerogenes* (100%), *Enterobacter cloacae* (100%), seguidos de *Klebsiella pneumoniae* (76%) e *Escherichia coli* (67%). Quanto à ampicilina, mostrou maior resistência ante os microrganismos isolados *Klebsiella pneumoniae* (100%), *Pseudomonas aeruginosa* (100%), *Morganella morganii* (100%), *Enterobacter aerogenes* (100%), *Enterobacter cloacae* (100%), seguidos da *Escherichia coli* (71%) e *Proteus mirabillis* (41%).

A *Morganella morganii* e *a Enterobacter cloacaese* apresentaram maior resistência à classe dos carbapenêmicos, onde o imipenem apresentou maior percentual de resistência, com 100%. Também foram resistentes a *Klebsiella pneumoniae* (72%), *Pseudomonas aeruginosa* (62%), *Proteus mirabillis* (50%) e *Escherichia coli* (33%) frente a esse antimicrobiano.

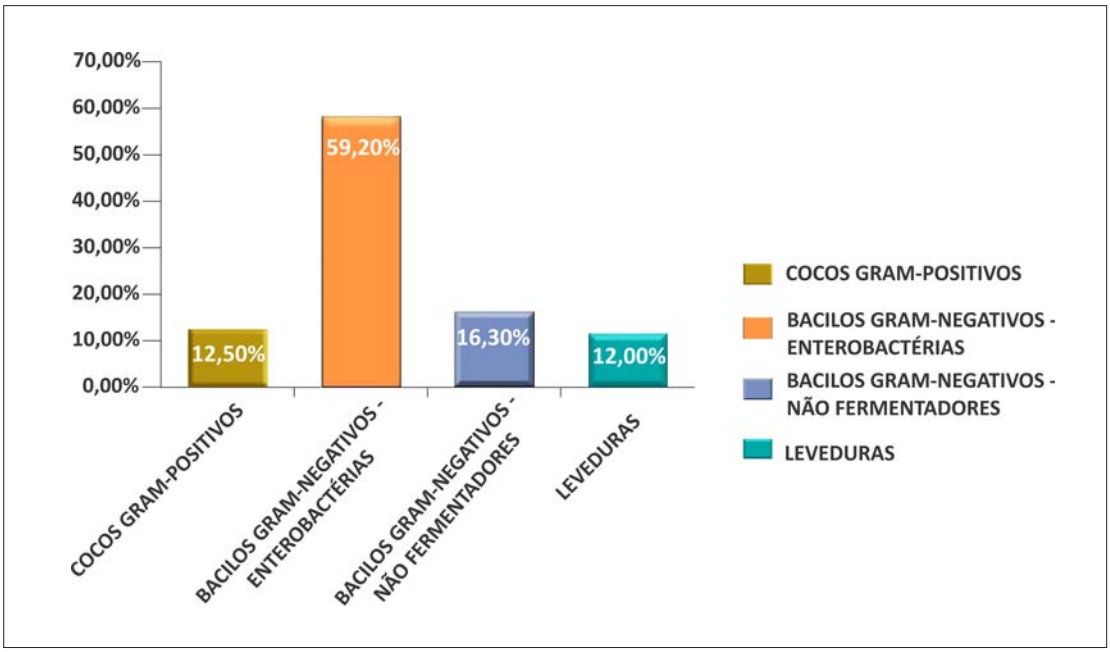

Gráfico 3. Frequência dos grupos de microrganismos isolados.

Tabela 4 - Percentual de resistência dos Bacilos Gram Negativos mais frequentes

% de Isolados resistentes a	Bactérias / N de Isolados						
	Escherichia coli	*Klebsiella pneumoniae*	*Proteus mirabilis*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Morganella morganii*	*Enterobacter aerogenes*	*Enterobacter cloacae*
	235	82	32	20	9	5	19
Gentamicina	22	15	3	60	33	20	26
Amicacina	0	2	0	20	0	20	0
Ampicilina	71	100	41	100	100	100	100
Amoxicilina/Clavulanato	37	45	17	100	100	100	100
Ampicilina/Sulbactam	67	76	100	100	100	100	100
Piperacilina/Tazobac	9	46	6	70	0	40	21
Ertapenem	0	24	9	-	0	0	11
Imipenem	33	72	50	62	100	0	100
Meropenem	0	26	9	45	0	0	11
Cefalotina	63	47	20	100	100	100	100
Cefepima	24	48	22	55	11	0	37
Cefoxitina	33	71	50	100	100	100	100
Ceftazidima	33	76	50	75	0	0	100
Ceftriaxona	25	48	22	100	22	40	37
Cefuroxima	41	51	22	100	100	40	68
Nitrofurantoina	13	89	100	100	100	100	59
Colistina	0	6	100	37	100	0	0
Norfloxacina	49	45	0	33	27	0	22
Ácido Nalidíxico	55	50	20	100	62	0	29
Ciprofloxacina	49	52	19	65	44	0	22
Tigeciclina	0	18	100	100	100	0	100
Trimetroprim/Sulfa	62	59	37	100	75	25	41

Nas cefalosporinas, o microrganismo que se apresentou mais resistente a essa classe de beta-lactâmicos foi a *Pseudomonas aeruginosa* seguida de *Morganella morganii*, sendo a cefalotina com 100%, cefoxitina com 100% e cefuxocima com 100%; os que obtiveram maior resistência em ambos os isolados, no *Enterobacter cloacae* e *Enterobacter aerogenes*, ambos tiveram resistência a cefalotina (100%) e cefoxitina (100%) .

Para a nitrofurantoína encontramos os seguintes percentuais de resistência: 100%, 89%, 59% e 13%, apresentando maior resistência nos isolados *Pseudomonas aeruginosa*, *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabillis* seguidos da *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, respectivamente.

A colistina foi mais resistente no *Proteus mirabilis* e *Morganella morganii,* apresentando 100% dos isolados resistentes.

Das quinolonas testadas, a *Pseudomonas aeruginosa* teve maior resistência, seguida da *Klebsiella pneumoniae*, sendo que a nitrofurantoína apresentou 100% de resistência nos dois isolados. A tigeciclina foi encontrada mais resistente no *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa, Morganella morganii* e *Enterobacter cloacae* com 100% das cepas resistentes.

Para o antibiótico trimetroprim/sulfa, a *Pseudomonas aeruginosa* foi mais resistente (100%), seguida da *Morganella morganii* (75%).

DISCUSSÃO

A importância da utilização e monitoramento do padrão de sensibilidade/resistência dos antimicrobianos frente aos microrganismos cresce diante das falhas no tratamento que, na maioria das vezes, é empírico; no entanto, a orientação de uma nova conduta terapêutica favorece o sucesso na terapia. O crescente aumento de bactérias resistentes a vários antimicrobianos representa um enorme desafio aos profissionais da área da saúde no tratamento das infecções, necessitando, portanto, de revisões e análises periódicas.[4]

Observou-se em nosso trabalho uma alta incidência de contaminações, com 417 (12%) amostras advindas provavelmente do transporte e coletas inadequadas, tendo em vista que muitos dos pacientes atendidos no laboratório trazem as amostras coletadas em casa e não há um ambiente adequado para que os mesmos coletem no próprio laboratório, como orienta *Boas Práticas em Microbiologia Clínica - 2015*, esclarecendo que o método de coleta de urina, usualmente, em pacientes ambulatoriais, é passível de contaminação com a microbiota genital.[9]

A forma mais correta de coleta tem relação direta com a diminuição nos índices de contaminação. O ideal é que se realize a coleta no próprio laboratório, e não em casa, visando eliminar o viés gerado pelo aumento da contagem de colônias durante o transporte. Vale lembrar que o transporte em temperatura inadequada pode alterar significativamente a contagem bacteriana, levando a culturas falso-positivas.[10]

Dos resultados de uroculturas positivas foi encontrada maior incidência em mulheres (74%) do que em homens (26%), representados no Gráfico 2 , segundo o estudo de Silveira et al.[11] Hörner[12] observou um maior número de infecções urinárias em mulheres (62,4%) do que nos homens (27,6%). Em consequência das suas características anatômicas, menor tamanho da uretra e sua localização ser próxima da região perianal, há uma predisposição dos indivíduos deste sexo a infecções urinárias, colaborando para que este dado seja predominante na maioria dos estudos realizados no mundo todo ao longo de muitos anos.[13,14]

No estudo de Hörner et al.[12] foram encontrados resultados semelhantes à *Escherichia coli* (52,1%) e *Klebsiella pneumoniae* (5,4%), *Proteus mirabilis* (2,71%), *Enterococcus faecalis* (5,4%), *Streptococcus agalactiae* (1,8%), *Pseudomonas aeruginosa* (6,8%), *Enterobacter cloacae complex* (4,8%), *Staphylococcus saprophyticus* (2,071%), *Acinetobacter baumannii* (1,6%), *Morganella morganii ssp* (0,9 %) e *Staphylococcus aureus* (3,6%); esses resultados corroboram com os resultados desse estudo, representado no Gráfico 1. Essa semelhança só difere do patógeno *Pseudomonas aeruginosa* (6,8%) que se apresenta em maior frequência que *Proteus mirabilis* (2,71%). Já para *Candida* sp. foram encontrados 3,3% no estudo de Barros et al.[15]

Nossos resultados evidenciaram no presente estudo que os bacilos Gram-negativos foram os principais agentes causadores de ITU, principalmente as enterobactérias; destas, a de maior incidência isolada nas uroculturas, a *Escherichia coli*, representando 39,10%, seguida da *Klebsiella pneumoniae* com 15,90% do total de amostras positivas. Na literatura encontramos estas bactérias como agentes mais frequentes no estudo de Barros,[15] Oliveira,[3] Pires et al.,[4] e Santana.[16] Segundo Koch,[17] *Escherichia coli* é a bactéria mais incidente em infecções urinárias no mundo inteiro, corroborando com esse estudo.

Em relação às bactérias Gram-positivas isoladas das uroculturas em nosso estudo, encontramos o ácido fusídico resistente somente frente a *S. saprophyticus*. Das quinolonas, a norfloxacina obteve maior resistência frente a *Streptococcus agalactiae* (100%) e *Enterococcus faecalis* (40%); já a ciprofoxacina e a moxifloxacina encontraram uma resistência menor frente ao *Enterococcus faecalis*, com 17% e 16% respectivamente.

Segundo Hörner et al.,[12] somente os antimicrobianos rotineiramente usados em ITU foram testados – levofloxacino,

ciprofloxacina e norfloxacino. O microrganismo que obteve melhor sensibilidade, com 100%, 90,2% e 91,6%, respectivamente, frente a esses antimicrobianos, foi o *Staphylococcus saprophyticus*. Observando os dois trabalhos, o ciprofloxacino sugere melhor opção terapêutica para *Enterococcus faecalis.*

Os bacilos Gram-negativos foram os principais agentes causadores de ITU, destacando-se as enterobactérias; destas, a de maior incidência foi *Escherichia coli* com o índice de 39,10%. O resultado obtido corrobora com o estudo de Araújo et al.,[14] que apresentou 58,75%. Santana et al.[16] também encontraram em seus estudos a prevalência da *E. coli* com índices de 90%. A segunda mais prevalente foi a *Klebsiella pneumoniae* (15,9%), seguida do *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*, embora esta última tenha sido a de menor incidência entre as anteriores. Foi evidenciada em nossos estudos uma resistência bastante expressiva frente aos antimicrobianos testados.

Observamos que, das classes dos aminoglicosídeos, o microrganismo encontrado mais resistente foi a *Pseudomonas aeruginosa*, sendo que a gentamicina (60%) apresentou a maior resistência em relação à amicacina (20%). Verificou-se uma resistência antimicrobiana em relação ao sulfazotrim (56%) e imipenem (26%), segundo Roriz-Filho.[18] No entanto, quase todos os antimicrobianos testados tiveram uma resistência elevada ante esse microrganismo, restando somente a amicacina com 80% de sensibilidade e o ertapenem como melhor indicativo para o tratamento de ITU desse microrganismo, sendo esse um fator preocupante, pelo fato de os carbapenêmicos serem uma das últimas opções terapêuticas indicadas.[19]

Em várias literaturas está evidente a preocupação com a capacidade elevada da *Pseudomonas aeruginosa* em criar mecanismos de resistência aos antimicrobianos. Sabe-se que esse microrganismo encontra-se amplamente disseminado nos ambientes hospitalares, bem como formulando meios de escapar dos mecanismos de defesa do hospedeiro. A primeira escolha de antibióticos para esse microrganismo quase sempre são beta-lactâmicos, incluindo as cefalosporinas, carbapenêmicos e as cefalosporinas; no entanto, esse microrganismo mostrou-se resistente a quase todos estes antibióticos.[14,20]

CONCLUSÃO

De modo geral, em nosso estudo, dentre os grupos de microrganismos, as enterobactérias representaram maior incidência, sendo a *Escherichia coli* a bactéria mais prevalente, os cocos Gram-positivos representaram o segundo grupo, tendo como mais prevalente *Enterococcus faecalis*. Embora a *Escherichia coli* represente em maior incidência, alguns antimicrobianos ainda são eficazes para o tratamento das ITUs para esse microrganismo, porém o fator mais preocupante nesse estudo foi a resistência a muitos antimicrobianos frente a *Pseudomonas aeruginosa*. As bactérias revelaram resistência a muitos antibióticos frequentemente utilizados na prática clínica, e o presente estudo mostrou que o perfil de sensibilidade e resistência antimicrobiana é de extrema importância para vigilância constante do aparecimento de novas cepas bacterianas resistentes e debelar infecções causadas pelas mesmas, diminuindo assim as infecções nosocomiais e os custos com terapias antimicrobianas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo epidemiológico dos uropatógenos e o estabelecimento do perfil da sensibilidade aos antimicrobianos contribuem significantemente no tratamento das ITU. Trabalhos como esse devem ser realizados com certa periodicidade, para que se possa ter um controle maior dessas taxas de resistências, norteado pelas bases microbiológicas para uma boa terapêutica das infecções bacterianas.

Abstract

Objective: *To characterize the profile of the main isolated microorganisms establishing a relation of antimicrobials with better sensitivity and greater resistance for the most prevalent microorganisms.* ***Methods:*** *A quantitative retrospective study was carried out based on the analysis of the database. The survey includes all individuals with positive urocultures performed from January to June 2015 for the prevalence of isolates. The isolated microorganisms were identified and evaluated for antimicrobial sensitivity through the Vitek II Compatc (Biomérieux) equipment.* ***Results:*** *A prevalence of UTI was observed in female subjects. Gram negative bacilli were the main causative agents of UTI, especially enterobacteria, of which the most prevalent was* Escherichia coli *with a rate of 39.10%. As resistance was found in the Gram positive bacteria with the highest resistance against the antibiotics tested was* Staphylococcus saprophyticus *100% in fusidic acid, penicillin and ampicillin, 83% against erythromycin. In Gram negative we found* Pseudomonas aeruginosa *as the most resistant microorganisms against all antimicrobials tested, leaving only amicacine with 80% sensitivity and ertapenem as the best indication of treatment.* ***Conclusion:*** *It is concluded that the monitoring of resistance and the study of the sensitivity profile of the pathogenic bacteria contribute to the pharmacotherapeutic follow-up of the patients.*

Keywords

Antimicrobial; Susceptibility tests; Disk diffusion; Prevalence; Urinary tract infections

REFERÊNCIAS

1. Tortora GJ. Microbiologia. 10ª Edição; Porto Alegre: Artmed, 2012.
2. Brasil. Agência Nacional da Vigilância Sanitária - Anvisa. Manual de Microbiologia Clinica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência a Saúde: Procedimentos Laboratoriais da requisição do exame a análise microbiológica e laudo final. Brasília: Anvisa, 2013. 101p.
3. Oliveira AC, Silva ACO. Prevalência de infecção do trato urinário relacionada ao cateter vesical de demora em pacientes de UTI. Revista de Pesquisa em Saúde. 2010;11(1):27-1.

4. Pires MCS, Frota KS, Martins PO Jr, Correia AF, Cortez-Escalante JJ, Silveira CA. Prevalência e suscetibilidades bacterianas das infecções comunitárias do trato urinário, em Hospital Universitário de Brasília, no período de 2001 a 2005. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 2007;40(6):643-47.
5. Braoios A, Turatti TF, Meredija LCS, Campos TRS, Denadai FHM. Infecções do trato urinário em pacientes não hospitalizados: etiologia e padrão de resistência aos antimicrobianos. J. Bras. Patol. Med. Lab.. 2009;45:449-56.
6. Sato AF, Svidzinski AE, Consolaro MEL, Boer CG. Nitrito urinário e infecção do trato urinário por cocos gram-positivos. J Bras Patol Med Lab . 2005;41(6):397-404.
7. Bail L, Esmerino LA, Ito CAS. Infecções do trato urinário: comparação entre o perfil de susceptibilidade e a terapia empírica com antimicrobianos. Rev. Bras. Anal. Clin. 2006;38:51-56.
8. De Francesco MA, Ravizzola G, Peroni L, Negrini R, Manca N. Urinary tract infections in Brescia, Italy: Etiology of uropathogens and antimicrobial resistance of common uropathogens. Med Sci Monit. 2007;13(6):BR136-44.
9. Levy CE. Manual de Microbiologia Clínica Para o Controle de Infecção Hospitalar em Serviço de Saúde. 1° edição; Brasília (DF): Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004.
10. Cardoso CL, Muraro CB, Siqueira VLD, Guilhermetti M. Simplified technique for detection of significant bacteriuria by microscopic examination of urine. J Clin Microbiol. 1998 Mar;36(3):820-3.
11. Silveira SA, Araújo MC, Fonseca FM, Okura HM, Oliveira ACS. Prevalência e suscetibilidade bacteriana em infecções do trato urinário de pacientes atendidos no Hospital Universitário de Uberaba. Rev. Bras. Anal. Clin. 2010;42(3):157-60.
12. Horner R, Vissotto R, Mastella A, Salla A, Dal Forno NLF, Righi RA, et al. Prevalência de microrganismos em infecções do trato urinário de pacientes atendidos no Hospital Universitário de Santa Maria. Rev. Bras. Anal. Clin. 2006;38(3):147-50.
13. Rodrigues FJB, Barroso APD. Etiologia e sensibilidade bacteriana em infecções. Rev Port Saúde Pública. 2011;29(2):23-131.
14. Araújo AK, Queiroz AC. Análise do perfil dos agentes causadores de infecção do trato urinário e dos pacientes portadores, atendidos no Hospital e Maternidade Metropolitano J. Health Sci. Inst. 2012;30:7-12.
15. Barros LM, Bento JNC, Caetano JÁ, Moreira RAN, Pereira FGF, Frota NM F, et al. Prevalência de micro-organismo e sensibilidade antimicrobiana de infecções hospitalares em unidade de terapia intensiva de hospital público no Brasil. Rev. ciênc. farm. básica apl. 2012;33(3):429-35.
16. Santana TCFS, Pereira EMM, Monteiro SG, Carmo MS, Turri RJG, Figueiredo PMS. Prevalência e resistência bacteriana aos agentes antimicrobianos de primeira escolha nas infecções do trato urinário no Município de São Luís-MA. Rev. Patol. Trop. 2012;41(4):409-18.
17. Koch CR, Ribeiro JC, Schnor OH, Zimmermann BS, Müller FM, D'Agostin J, et al. Resistência antimicrobiana dos uropatógenos em pacientes ambulatoriais. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2008;41 (3):277-81.
18. Roriz-Filho JS, Vilar FC, Mota LM, Leal CL, Pisi PCB. Infecção do trato urinário. Revista da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e do Hospital das Clínicas da FMRP da Universidade de São Paulo. 2010;43(2):118-25.
19. Muller EV, Santos D F, Correa NAB. Prevalência de microrganismos em infecções do trato urinário de pacientes atendidos no laboratório de análises clínicas da Universidade Paranaense-Umuarama-PR Rev. Bras. Anal. Clin. 2008;40(1):35-7.
20. Vieira JMS, Saraiva RMC, Mendonça LCV, Fernandes VO, Pinto MRC, Vieira ABR. Suscetibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de infecções do trato urinário de pacientes atendidos no Hospital Universitário Bettina Ferro de Souza, Belém - PA. Rev. Bras. Anal. Clin. 2007;39(2):119-121.

Correspondência
Darcielle Bruna Dias Elias
Rua Capitão Francisco Pedro, 1314-1394 – Rodolfo Teófilo
60430-372 – Fortaleza-CE, Brasil

Qualidade microbiológica da couve-manteiga (*Brassica oleracea L.*) minimamente processada comercializada em supermercado na cidade de Marília-SP

*Microbiological quality of fresh-cut kale (*Brassica oleracea L.*) marketed in a supermarket in the city of Marília-SP*

Kely Braga Imamura[1]
Tatiane Cristina Ferreira[2]
Juliana Audi Giannoni[3]
Cláudia Dorta[4]

Resumo
Objetivo: A produção de frutos e hortaliças minimamente processados vem apresentando crescimento relevante nos últimos anos em razão da acentuada mudança nos hábitos alimentares dos consumidores, que estão em busca de conveniência, praticidade e uma dieta rica em alimentos saudáveis. O objetivo deste estudo foi analisar as características microbiológicas da couve-manteiga minimamente processada comercializada em supermercado na cidade de Marília-SP. Este estudo teve também o intuito de mostrar aos fabricantes e consumidores a importância do controle de qualidade nas etapas do processamento mínimo e os riscos que as contaminações podem causar à saúde dos consumidores. **Métodos:** Foram realizadas análises microbiológicas, de coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus coagulase* positiva em três marcas de couve-manteiga minimamente processada, coletadas de forma aleatória, comercializadas na cidade de Marília-SP. **Resultados:** A partir dos resultados obtidos nas análises microbiológicas verificou-se que a amostra C2 da marca C apresentou limites fora do estabelecido pela legislação vigente, indicando falhas no controle higiênico-sanitário durante o processamento. **Conclusão:** Estes resultados indicaram a necessidade da implantação das Boas Práticas de Fabricação (BPF), no controle de qualidade destes produtos.

Palavras-chave
Microbiologia de alimentos; Segurança alimentar e nutricional; Boas práticas de fabricação; Qualidade dos alimentos; Tecnologia de alimentos

INTRODUÇÃO

O aumento do consumo de frutas e hortaliças minimamente processadas está associado à busca por conveniência e praticidade dos consumidores do novo século. Os minimamente processados oferecem uma alternativa "in natura" sendo uma ótima opção de alimento fresco, rico em nutrientes e de fácil consumo.[1,2]

Segundo a *International Fresh-Cut Producers Association*, produtos minimamente processados são definidos como qualquer fruta ou hortaliça, ou ainda qualquer combinação delas, que foi alterada fisicamente a partir de sua forma original, embora mantenha o seu estado fresco. Independente do tipo, o alimento, é selecionado, lavado, descascado e cortado, e, posteriormente, embalado ou pré-embalado.[3]

No Brasil, a Resolução RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde.[4] estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos. Nesta resolução não existem padrões específicos para as frutas e hortaliças minimamente processadas. Sendo assim, os minimamente podem ser inseridos no grupo de alimentos designados como: "alimentos frescos, 'in natura', preparados (descascados ou selecionados ou fracionados), sanificados, refrigerados ou congelados, para consumo direto".

[1]*Mestre em Biotecnologia. (Doutoranda e Professora substituta) – Unesp – Araraquara-SP, Brasil.*
[2]*Graduada em Tecnologia em Alimentos – Fatec-Marília - Faculdade de Tecnologia – Marília-SP, Brasil.*
[3]*Professora de Toxicologia em Alimentos – Fatec-Marília - Faculdade de Tecnologia – Marília-SP, Brasil.*
[4]*Professora de Microbiologia dos Alimentos – Fatec-Marília - Faculdade de Tecnologia – Marília-SP, Brasil.*

Instituição: Unesp – Araraquara-SP, Brasil.

Artigo recebido em 18/01/2017
Artigo aprovado em 02/05/2017
DOI: 10.21877/2448-3877.201700563

A qualidade e a segurança dos alimentos minimamente processados estão relacionadas a vários fatores, incluindo, a qualidade da matéria-prima, padrões de qualidade durante o processamento, uso de embalagens apropriadas e às condições adequadas de armazenamento.[5]

O manuseio excessivo durante o preparo dos minimamente processados, como o descasque, o fracionamento e a lavagem aumentam os riscos de contaminação por microrganismos patogênicos que podem transmitir doenças aos consumidores.[6] Estes riscos são ainda maiores porque o processamento mínimo causa injúrias, induzindo respostas fisiológicas e bioquímicas nos vegetais; estes processos respiratórios afetam o microambiente e, consequentemente, o desenvolvimento microbiano.[7] A combinação de tecido injuriado e aceleração no metabolismo contribuem para a perda de qualidade do produto, afetando, consequentemente, sua vida útil.[8]

As condições higiênico-sanitárias do manipulador, dos equipamentos, utensílios e do ambiente também influenciam na qualidade microbiológica do produto final. Além da contaminação por microrganismos patogênicos, a qualidade microbiológica dos alimentos minimamente processados também está relacionada à presença de microrganismos deteriorantes, que irão influenciar as alterações sensoriais do produto durante sua vida de prateleira.[9]

Nos últimos anos, apesar de todo o crescimento verificado no setor de minimamente processados, é crescente o relato de doenças infecciosas associadas ao consumo de frutas e hortaliças frescas.[1,10] Depois do processamento, os alimentos devem apresentar atributos de qualidade, como o frescor, aroma, cor e sabor, mantendo o máximo de suas características nutritivas e sensoriais do produto intacto. Os alimentos minimamente processados são altamente perecíveis devido à exposição de seus tecidos internos, causando aceleração no seu metabolismo em decorrência da alteração física, fisiológica e bioquímica.[11]

Existem poucos estudos sobre a microbiologia de alimentos minimamente processados. A determinação da presença de microrganismos deteriorantes e patogênicos nestes produtos é extremamente importante para fornecer dados para as especificações de padrões microbiológicos e a implantação de Boas Práticas de Fabricação no processamento destes alimentos, trazendo mais segurança e qualidade para os consumidores, que estão cada vez mais exigentes com relação ao consumo de alimentos saudáveis, com qualidade e segurança, além de maior tempo de prateleira para os produtos minimamente processados.

Dentre as hortaliças, a couve é altamente consumida pela população brasileira, viabilizando o seu uso como minimamente processada.[12] No Brasil, dentre os vegetais minimamente processados, a couve-manteiga se destaca,[13] uma vez que este vegetal acompanha pratos típicos brasileiros como a "feijoada".[14] Sendo assim, este estudo teve como objetivo analisar a qualidade e a segurança microbiológica de três marcas de couve-manteiga minimamente processada e comercializada na cidade de Marília-SP.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta das amostras

As três marcas de couve-manteiga (*Brassica oleracea L.*) minimamente processadas foram adquiridas em supermercados na cidade de Marília-SP. As hortaliças estavam acondicionadas em bandejas de poliestireno expandido, envolto por filme de polietileno, e armazenadas em gôndola refrigerada. Foram coletados três pacotes de cada marca de couve-manteiga. Logo após, as amostras foram transportadas em caixas térmicas contendo gelo, até o Laboratório de Análises Microbiológicas em Alimentos da Faculdade de Tecnologia de Marília-SP. As marcas coletadas para análise foram designadas de Marca A (A1, A2, A3); Marca B (B1, B2, B3) e Marca C (C1, C2, C3). Todas as amostras foram coletas no mesmo dia e perto da data de fabricação designada na embalagem.

Análises microbiológicas

Foram analisadas três marcas diferentes de couve-manteiga minimamente processada em triplicata totalizando nove amostras. As análises microbiológicas foram realizadas segundo o Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos.[15]

Para coliformes totais e termotolerantes foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP). Os resultados positivos e negativos obtidos na técnica de tubos múltiplos, (TTM) foram processados através da Tabela de Hoskins. O arranjo do número de tubos positivos das três diluições é transposto para a tabela estatística, que informa o NMP para as diferentes combinações de tubos positivos fornecendo o número mais provável de microrganismos deste grupo. A contagem de *Staphylococcus coagulase* positivo (UFC.g-1) foi realizada por espalhamento em superfície em meio ágar Baird-Parker, e, para *Salmonella* spp. foi utilizado o método ISO 6579:2007 (E).

Análise de coliformes totais e termotolerantes

Assepticamente, após homogeneização dos vegetais, 25 g da amostra foram transferidas para 225 mL de água peptonada tamponada e, a partir desta, foram preparadas diluições até 10^{-3}. As amostras foram inoculadas em tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), sendo 1 mL de cada diluição para 10 mL de caldo em cada tubo. Os tubos foram incubados a 35º-37ºC/24-48h. A partir dos tubos de LST que apresentaram produção de gás, foi transferida uma alçada de cada cultura para os tubos contendo Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB) e Caldo *Escherichia coli* (EC).

Os tubos de VB seguiram para incubação a 35º-37ºC/24-48h, e os tubos de EC seguiram para incubação a 44º-45ºC/24-48h. Após o tempo de incubação, os tubos de VB com crescimento e formação de gás foram confirmativos para a presença de coliformes totais.

Para a contagem de *Escherichia coli* spp, de cada tubo de Caldo EC com produção de gás foi retirada uma alçada, a qual foi estriada em placas de meio Ágar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB). As placas seguiram para incubação a 35ºC/24h. As colônias típicas (nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico) foram estriadas em tubos com meio Ágar Padrão para Contagem (PCA) e incubadas a 35ºC/24h. Os tubos PCA com crescimento de culturas puras foram transferidos para a série bioquímica Rugai com Lisina incubada a 35ºC/24h. A confirmação de *E. coli* foi obtida através dos resultados da série bioquímica.

Análise de Staphylococcus coagulase positiva

As amostras, após diluições até 10^{-3}, foram inoculadas na superfície de placas de Ágar Baird-Parker (BP), previamente preparadas e solidificadas. Foi espalhado o inóculo com alça de Drigalski, das placas de maior diluição (10^{-3}) para as placas de menor diluição (10^{-1}), até que todo o excesso fosse absorvido. As placas seguiram para incubação a 35º-37ºC/45-48h, invertidas em B.O.D. Após o tempo de incubação, as placas com presença de colônias típicas (colônias circulares, pretas ou cinzas escuras, com 2-3 mm de diâmetro, lisas, convexas, com bordas perfeitas, massas de células esbranquiçadas nas bordas, rodeadas por uma zona e/ou halo transparente) foram selecionadas. Em seguida, as colônias foram transferidas para tubos com Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI), e incubadas a 35º-37ºC/18-24h. Para a confirmação de *Staphylococcus aureus* foram realizados os testes de coagulase e catalase, e incubação em placa Petrifilm (3M).

Análise de *Salmonella* spp.

As diluições (até 10^{-3} em água peptonada tamponada) foram transferidas para tubos contendo Caldo Tetrationato Muller Kauffmann Novobiocina (MKTTn) e tubos com Caldo Selenito-Cistina (SC), sendo 0,1 mL de diluição para 1 mL de caldo (MKTTn) e 1 mL de diluição para 10 mL de caldo (SC), que seguiram para incubação a 37ºC/24h. De cada cultura foi estriada uma alçada para os meios diferenciais Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), Ágar Bismuto Sulfito (BS) e *Salmonella Shigella* Ágar (SSA) seguidos de incubação em placas invertidas a 37ºC/24h. Com a detecção das colônias típicas, foi estriada uma alçada destas colônias e transferida para placas com meio Ágar Nutriente (NA) para purificação. As placas foram incubadas invertidas a 37ºC/24h. Após a incubação, foram selecionadas colônias isoladas para os testes de confirmação. A confirmação de *Salmonella* foi obtida por meio do teste de série bioquímica Rugai com Lisina.

Análise estatística

Os dados foram expressos por meio de média, desvio-padrão e submetidos à comparação de médias realizada por meio dos testes Anova e Tukey, utilizando-se o software estatístico BioEstat.[16,17]

RESULTADOS

Foram realizadas análises microbiológicas de coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp., seguindo os padrões recomendados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) pela Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001, para Hortaliças frescas, "in natura", preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas) sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto, que estabelece limite máximo de $5x10^2$ NMP/g para coliformes termotolerantes e a ausência de *Salmonella* spp., em 25 g do produto.[4] A legislação não estabelece limites para *Staphylococcus coagulase* positiva, entretanto, como o alimento minimamente processado tem excessiva manipulação, optou-se por também analisar.

Os resultados das análises de coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus coagulase* positiva e *Salmonella* spp. estão apresentados na Tabela 1. Pesquisou-se a presença de *E. coli* nas amostras positivas para coliformes termotolerantes. Encontrou-se presença de *E. coli* e *Salmonella* spp. na amostra C2 e presença de *Staphylococcus coagulase* positiva em todas as amostras (A, B e C).

A Tabela 2 refere-se ao percentual relativo das amostras analisadas que estão fora dos limites padronizados pela legislação.[4] Verificou-se a presença de *Salmonella* spp. e *E. coli* em 33% das amostras analisadas da marca C e a presença de *Salmonella* coagulase positiva (>$1,0x10^5$) em 100% (amostras A e C) e 66% (amostra B) das amostras.

DISCUSSÃO

Os alimentos minimamente processados são expostos a várias formas de contaminação; sendo assim, durante o processamento destes alimentos, a aplicação de Boas Práticas de Fabricação é extremamente importante e indispensável para garantir qualidade ao produto final. Nos supermercados a temperatura e o local de armazenamento também influenciam na qualidade do alimento minimamente processado.

Tabela 1 - Resultados das análises microbiológicas da couve-manteiga minimamente processada

Amostras	Coliformes Totais (NMP/g)	Coliformes Termotolerantes (NMP/g	*Staphylococcus coagulase* positiva (UFC/g)	*Salmonella* spp. (NMP/g)
A1	>1.100	<3,0	$1,0x10^5$	Ausência
A2	>1.100	<3,0	$1,0x10^6$	Ausência
A3	>1.100	<3,0	$1,0x10^7$	Ausência
B1	<3,0	<3,0	$4,2x10^3$	Ausência
B2	3,0	<3,0	$1,2x10^5$	Ausência
B3	3,0	<3,0	$2,1x10^5$	Ausência
C1	>1.100	<3,0	$1,0x10^6$	Ausência
C2	>1.100	9,4*	$1,0x10^7$	Presença
C3	>1.100	<3,0	$1,0x10^9$	Ausência

Na amostra C2 foi possível confirmar por meio de testes bioquímicos a presença da bactéria *Escherichia coli.*
Fonte:Dado dos Autores, 2016.

Tabela 2. Resultados em (%) obtidos nas análises microbiológicas de couve-manteiga minimamente processada

Marcas	*Salmonella* spp.	Coliformes Termotolerantes	*Staphylococcus coagulase positiva (> 105)*
A	0%	0%	100%
B	0%	0%	66%
C	33%	33%	100%

Fonte:Dado dos Autores, 2016.

Entre as marcas de couve-manteiga minimamente processados (A, B e C) coletados na cidade de Marília-SP, observaram-se diferenças significativas nos valores de coliformes totais entre as marcas A e C quando comparadas a marca B ($p< 0,05$) (Tabela 1). De acordo com a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* – ICMSF16, a presença de coliformes em alimentos indica manipulação inadequada durante o processamento e/ou uso de equipamentos em más condições higiênicas. Estes resultados apontam falhas nas Boas Práticas de Fabricação durante a manipulação da couve-manteiga. Os coliformes são utilizados como indicadores das condições de higiene dos processos de fabricação, pois são facilmente inativados pelos sanitizantes.

Apenas a marca C apresentou presença de *Escherichia coli* (amostra C2). A presença deste microrganismo reforça a falta de condições higiênico-sanitárias no processamento da couve-manteiga (Tabela 1). As marcas A, B e C apresentaram quantidades elevadas de *Staphylococcus coagulase* positiva. (Tabela 1). A presença de *Staphylococcus* indica contaminação pós-processo, que geralmente se deve ao contato com os manipuladores ou com superfícies inadequadamente sanitizadas. Estes resultados evidenciam a importância da pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva em vegetais minimamente processados, uma vez que a presença de quantidades elevadas destes microrganismos (valores $\geq$ a 10^5) indica falhas na manipulação desses alimentos e possível presença da enterotoxina estafilocócica.

Apenas a marca C (amostra C2) apresentou presença de *Salmonella typhi* (Tabela 1). Esta cepa de *Salmonella* é responsável por provocar septicemia e febre tifoide ou paratifoide em humanos. A septicemia tem sido associada com infecções subsequentes em praticamente todos os órgãos. A presença destes microrganismos nos alimentos minimamente processados está relacionada com surtos de infecção alimentar e saúde pública.[18]

Santos et al.[19] analisaram trinta amostras de alface, cenoura e couve minimamente processadas comercializadas em Brasília-DF. Os autores verificaram a presença de coliformes termotolerantes acima do permitido em todas as amostras e foi observada a presença de *Salmonella* spp. em uma das amostras de alface. Silva et al.[18] avaliaram 56 amostras de vegetais minimamente processados comercializados na cidade de Porto Alegre-RS e confirmaram a presença de *Escherichia coli* spp. em oito amostras. Evangelista et al.,[20] não encontram presença de *Salmonella* spp. em nenhuma amostra de couve-chinesa analisada. Silva,[21] ao estudar as características microbiológicas do abacaxi minimamente processado, encontrou coliformes totais variando de 1,3 a 46 NMP.g-1, durante o armazenamento, porém não encontrou coliformes termotolerantes em nenhuma amostra analisada.

Perdoncini, Silva e Pante[22] analisaram amostras de couve minimamente processada comercializadas no município de Campo Mourão e encontraram ausência de *Salmonella* spp. em todas as amostras analisadas; entretanto, encontraram presença de coliformes termotolerantes em 33% das amostras e contaminação por *Staphylococcus*

coagulase positiva em 78% das amostras. Estes resultados encontrados por esses pesquisadores indicam falhas na manipulação desses alimentos e falta de qualidade microbiológica.

Santos et al.,[23] ao compararem os aspectos microbiológicos da couve minimamente processada com a couve *in natura* encontraram presença de *Staphylococcus aureus,* coliformes totais e bolores e leveduras em todas as amostras de couve minimamente processada e couve *in natura* analisadas da cidade de Vitória da Conquista-BA.

Levando em consideração a RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 (que não especifica alimentos minimamente processados) a marca C (amostra C2) está fora dos padrões estabelecidos para o consumo humano (Tabelas 1 e 2). Entretanto, se analisarmos a presença de *Staphylococcus coagulase* positiva, todas as marcas estariam fora dos padrões microbiológicos, mas a legislação brasileira não estabelece limites para este microrganismo em alimentos minimamente processados. Os valores encontrados de *Staphylococcus coagulase* positiva variam de 10^4 até 10^9 UFC/g do produto. De acordo com a RDC N°12 de 02 de janeiro de 2001, para hortaliças branqueadas ou cozidas, inteiras ou picadas, estáveis à temperatura ambiente, refrigeradas ou congeladas, consumidas diretamente, incluindo cogumelos, o limite máximo para *Staphylococcus coagulase* positiva é de 10^3 UFC/g do produto.[4]

Estes resultados demonstram o quanto é importante a implementação de Boas Práticas de Fabricação e o quanto é necessário uma legislação específica para alimentos minimamente processados que englobem todos os microrganismos que possam estar presentes nestes alimentos.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos por meio das análises realizadas, foi possível afirmar que a marca C (amostra C2) de couve-manteiga minimamente processada comercializada em supermercado na cidade de Marília-SP encontrou-se fora dos parâmetros de adequação para consumo humano segundo a legislação vigente. Há necessidade de inspeção e criação de legislação especifica, pelos órgãos responsáveis, para os alimentos minimamente processados, uma vez que o seu consumo está crescendo progressivamente pelos consumidores que buscam uma alimentação semelhante a "in natura" e extremamente prática. A comercialização de alimentos impróprios para o consumo humano coloca em risco a saúde dos consumidores.

Abstract

Objective: *The production of fresh-cut fruits and vegetables has shown an outstanding growth in the latest years, due to the remarkable changes in the consumers' life style, who are in search of convenience, practicality and a diet rich in healthy foods. The objective of this study was to analyze the microbiological characteristics of kale processed minimally commercialized in supermarket in the city of Marilia-SP, in order to show manufacturers and consumers the importance of quality control in minimal processing steps and the risks that contamination can cause to the health of consumers.* ***Methods:*** *Were submitted to microbiological analyses (coliforms at 45°C,* Salmonella *spp. and* Staphylococcus *goagulase positive) in three kale marks minimally processed, collected at random, commercialized in the city of Marilia-SP.* ***Results:*** *From the results obtained in the microbiological analysis it was found that the C2 samples were outside the limits established by the legislation, indicating gaps in hygienic-sanitary control during processing.* ***Conclusion:*** *These results indicate the need to implement Good Manufacturing Practices (GMP), the quality control of these products.*

Keywords

Food microbiology; Food security; Good manufacturing practices; Food technology; Food quality

REFERÊNCIAS

1. Beuchat LR. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. Microbes Infect. 2002;4(4):413-23.
2. Silva BL. Avaliação Higiênico-sanitária de Produtos Minimamente Processados Comercializados em Botucatu - SP. Perfil Genótipo e Fenótipo das Cepas de Staphylococcus spp. em Relação a Produção de Biofilme e de Enterotoxinas; [Tese de Mestrado] - Unesp; Botucatu - SP; 2013.
3. IFPA. International fresh-cut produce association. Disponível em: http://www.creativew.com/ sites/ifpa/about.html. Acesso em: 10 fev. 2016.
4. Brasil, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Resolução RDC Nº12, de 02 de janeiro de 2001.
5. Cantwell MI, Suslow TV. Postharvest handling systems: fresh cut fruits and vegetables. In: Kader A A (Ed.). Postharvest technology of horticultural crops. 3a ed. Davis: Califórnia, 36:445-463, 2002.
6. Fantusi E, Puschmann R, Vanetti MCD. Microbiota contaminante em repolho minimamente processado. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 24(2):207-211, abr.-jun. 2004.
7. Brackett RE. Alteración microbiológica y microrganismos patógenos de frutas y hortalizas refrigeradas minimamente procesadas. In: Willey, Robert. C. (Ed.). Frutas e hortaliças minimamente processadas e refrigeradas. Zaragoza: Acríbia, p. 263-304, 1997.
8. Deliza R. Importância da qualidade sensorial em produtos minimamente processados. In: Encontro Nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças, 2., 2000, Viçosa. Palestras... Viçosa: UFV, 2000.
9. Vanetti MCD. Segurança microbiológica em produtos minimamente processados. In: Encontro Nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças, 2004, Viçosa, MG. Anais... Viçosa: UFV, 2004 p. 1.
10. Paula NRF, Vilas-Boas EVB, Rodrigues LJ, Carvalho RA, Piccoli RH. Qualidade de Produtos Minimamente Processados e Comercializados em Gôndolas de Supermercados nas Cidades de Lavras. Ciênc. agrotec., Lavras, 33(1):219-227, jan.-fev., 2009.
11. Chitarra MIF, Chitarra AB. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2ª ed. Lavras: UFLA, p. 785, 2005.
12. Carnelossi MAG, Silva EO. Processamento mínimo de couve e repolho. In: II Encontro Nacional Sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, Palestras, p.125-131, 2000.
13. Dantas MIS, Deliza R, Minim VPR, Hedderley D. Avaliação da intenção de compra de couve minimamente processada. Ciênc Tecnol Aliment. 24(4):762-767, out.-dez. 2005.
14. Colleta RCLD. Respostas Fisiológicas de Cenoura, Repolho-roxo e Couve Minimamente Processados Isolados e em Combinação; Dissertação de mestrado. UFV, Viçosa - MG; 2009.

15. Silva N, Junqueira V, Silveira NFA, Taniwaki MH, Santos RFS dos, Gomes RAR. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 4a edição. São Paulo: Livraria Varela, p. 614, 2010.
16. Ayres M, Ayres Jr. M, Daniel L, Santos AAS. BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém; Sociedade civil Mamiravá: MCT-CNPq, 2007.
17. Bussab WO, Morettin PA. Estatística básica. 7a ed. São Paulo: Saraiva, 540p, 2011.
18. Silva SRP, Verdin SEF, Pereira DC, Schatkoski AM, Rott MB, Corção G. Microbiological quality of minimally processed vegetables sold in Porto Alegre, Brazil. Braz J Microbiol. 2007;(38):594-8.
19. Santos APR, Junqueira AMR, Resende A. Avaliação da contaminação microbiológica em hortaliças minimamente processadas. Hort.bras. 2005;23:439-41.
20. Evangelista RM, Vieites RL, Castro PS, Rall VLM. Qualidade de couve-chinesa minimamente processada e tratada com diferentes produtos. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 29(2):324-332, abr./jun. 2009.
21. Silva CG. Estudo do efeito do tipo de corte, adição de cloreto e ácido ascórbico nas características físicas, físico-químicas e microbiológicas do abacaxi minimamente processado. [Dissertação de mestrado] p. 81., 2001.
22. Perdoncini MRFG, Silva AC, Pante GC. Qualidade Microbiológica e Importância da Pesquisa de Estafilococos Coagulase Positiva em Couves Minimamente Processadas, Comercializadas no Município de Campo Mourão, 1(1):221-222 . In: Proceedings of the XII Latin American Congress on Food Microbiology and Hygiene [=Blucher Food Science Proceedings, São Paulo: Blucher, 2014.
23. Santos KRSB, Teixeira CNS, Júnior NMV, Santana RF, Miranda AS, Coutinho, RG. Estudo comparativo da couve minimamente processada e in natura, segundo aspectos de qualidade microbiológica. Demetra; 10(2):279-287, 2015.

Correspondência
Cláudia Dorta
Rua Treze de Maio, 860, apto 204 - bloco 03
Vila Xavier
14810-086 – Araraquara-SP, Brasil

Estudo epidemiológico das infecções fúngicas superficiais em Itajaí, Santa Catarina

Epidemiological study of surface fungal infections in Itajaí, Santa Catarina

Aline Didoni Fajardo[1]
Renan Ribeiro da Silva[1]
Ana Paula Michels Costa[1]
André Luiz Rossetto[2]
Rosana Cé Bella Cruz[3]

Resumo
Objetivo: Foram investigados e caracterizados os aspectos clínicos e epidemiológicos das micoses superficiais, a fim de determinar o perfil epidemiológico das infecções fúngicas superficiais por meio dos exames micológicos nos pacientes atendidos no município de Itajaí, Santa Catarina (SC). **Métodos:** Foi realizado um estudo transversal e retrospectivo dos exames micológicos realizados em um Laboratório Escola de Análises Clínicas e registrados nos prontuários dos pacientes atendidos no período de janeiro de 2014 a junho de 2016. **Resultados:** A maioria dos pacientes foi do sexo feminino, geralmente entre 61 a 70 anos e a região afetada, a ungueal. O fungo mais identificado foi *Candida* spp, sendo alguns raros como *Aspergillus* spp., *Acremonium* spp. e *Hortaea werneckii*. **Conclusão:** O sexo feminino foi o mais acometido e a região ungueal o sítio anatômico mais frequentemente afetado. Os estudos epidemiológicos das micoses superficiais com identificação dos agentes etiológicos auxiliam para o conhecimento da prevalência regional, corroborando em melhor manejo clínico com diminuições da terapêutica baseada apenas na suspeição clínica, insucesso terapêutico e resistência medicamentosa.

Palavras-chave
Micoses; Dermatomicoses; *Candida*; Infecções oportunistas; Epidemiologia

INTRODUÇÃO

Nos mais variados habitats podem estar presentes fungos que são dispersos por fatores como vento, água, alimentos, animais e humanos.[1] Nos seres humanos, os fungos podem ser transitórios da microbiota, patógenos verdadeiros e oportunistas.[2,3]

A maioria dos agentes fúngicos é de origem ambiental e infectam os seres humanos e animais por inalação, ingestão ou inoculação direta.[3] Atualmente são considerados um problema de saúde pública devido à alta prevalência e aumento da incidência nas últimas décadas.[3,4]

As micoses superficiais são infecções localizadas nas camadas superficiais da pele e seus anexos, sendo frequentemente causadas pelos fungos dermatófitos e leveduriformes como *Candida* spp. e *Malassezia* spp.[5-7] Estas enfermidades geralmente não são diagnosticadas adequadamente e com terapêuticas baseadas apenas nas evidências clínicas.

O diagnóstico adequado deve ser baseado na identificação dos fungos por meio do exame micológico direto, cultura em meios seletivos, microcultivo em lâminas ou metabólitos por testes químicos.[3] A biologia molecular pela ampliação do DNA por reação da cadeia de polimerase (PCR) revela diagnósticos mais precisos dos agentes etiológicos.[3]

Os estudos em São Paulo, Goiânia, Porto Alegre e Santa Catarina demostraram variações dos agentes etiológicos conforme a região analisada e evidenciaram importância epidemiológica na conduta terapêutica.[8-12]

O objetivo do presente estudo foi determinar o perfil epidemiológico das infecções fúngicas superficiais com a identificação dos agentes etiológicos através dos exames micológicos nos pacientes atendidos no município de Itajaí, Santa Catarina (SC), Brasil.

[1]*Graduada(o) em Medicina. Universidade do Vale do Itajaí– Itajaí-SC, Brasil.*
[2]*Especialista em Dermatologia pela Sociedade Brasileira de Dermatologia, Professor de Dermatologia do Curso de Medicina, Universidade do Vale do Itajai – Itajaí-SC, Brasil.*
[3]*Mestra. Farmacêutica-Bioquímica, Professora de Micologia do Curso de Medicina, Universidade do Vale do Itajai – Itajaí-SC, Brasil.*

Instituição: Universidade do Vale do Itajaí – Itajaí-SC, Brasil.
Suporte Financeiro: Bolsa de Iniciação Científica do Artigo 170 do estado de Santa Catarina.

Artigo recebido em 29/05/2017
Artigo aprovado em 18/10/2017
DOI: 10.21877/2448-3877.201700584

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal e retrospectivo dos exames micológicos realizados em um Laboratório Escola de Análises Clínicas e registrados nos prontuários dos pacientes atendidos no período de janeiro de 2014 a junho de 2016.

As amostras das lesões dos pacientes com suspeitas de micoses superficiais foram coletadas por Farmacêutico-Bioquímico e submetidas aos exames micológicos diretos (EMD) e culturas. O material coletado para o EMD foi clarificado com hidróxido de potássio (KOH) a 20% e, após aproximadamente 30 minutos, foi microscopicamente estudado. Nas culturas das amostras foi utilizado o meio de Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) e incubadas à temperatura ambiente (25ºC) durante quatro semanas. A identificação do agente etiológico foi baseada no estudo do aspecto da colônia macroscópica e microscópica, com uso de lactofenol azul algodão.

As variáveis analisadas foram gênero, idade e regiões anatômicas das lesões dos pacientes. Os dados obtidos após as análises das amostras foram tabulados e apresentados através de frequência absoluta e relativa sendo analisados através da estatística descritiva simples.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética conforme nº 51205415.3.0000.0120.

RESULTADOS

Foram revisados 702 prontuários dos pacientes encaminhados ao Laboratório Escola de Análises Clínicas (LEAC), sendo 676 provenientes do ambulatório de dermatologia da instituição de ensino e 26 das unidades básicas de saúde de Itajaí no período de janeiro de 2014 a junho de 2016. Foram encontrados 131 prontuários (18,6%) com suspeitas clínicas de micoses superficiais, sendo que 54 pacientes (41,2%) realizaram coletas das amostras para os exames micológicos. Em todas as amostras coletadas, os exames micológicos (EMD e culturas) foram positivos, exceto em duas amostras (3,7%) com resultados negativos (EMD e culturas).

Quanto ao gênero, dos 131 pacientes com suspeita clínica de micoses superficiais e nos 52 pacientes com exames micológicos positivos, foi, respectivamente, maioria no feminino (54,9% e 53,8%) em relação ao masculino (45,1% e 46,2%).

Nos 52 pacientes com exames micológicos positivos, a idade variou dos 2 aos 78 anos, com mediana de 45 anos, sendo a faixa etária dos 61 a 70 anos a mais afetada e representando 19,0% da população (Figura 1).

As regiões anatômicas com infecções fúngicas superficiais foram o couro cabeludo, face e pescoço, corpo, inguino-crural, palmar, plantar e ungueal. As unhas das mãos e pés foram inclusas como região ungueal (32,7%) e sendo a mais afetada (Figura 2).

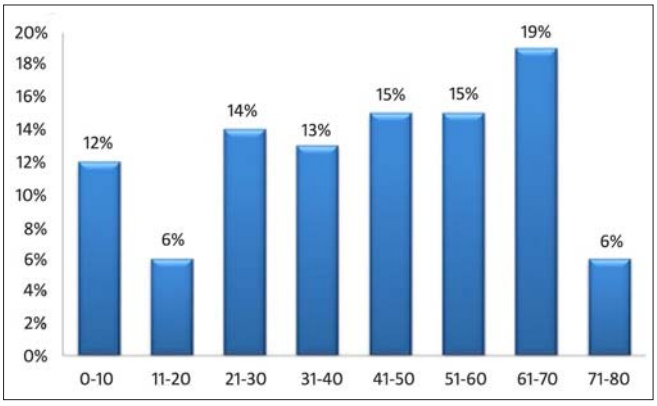

Figura 1. Distribuição da faixa etária dos 52 pacientes com exames micológicos positivos.

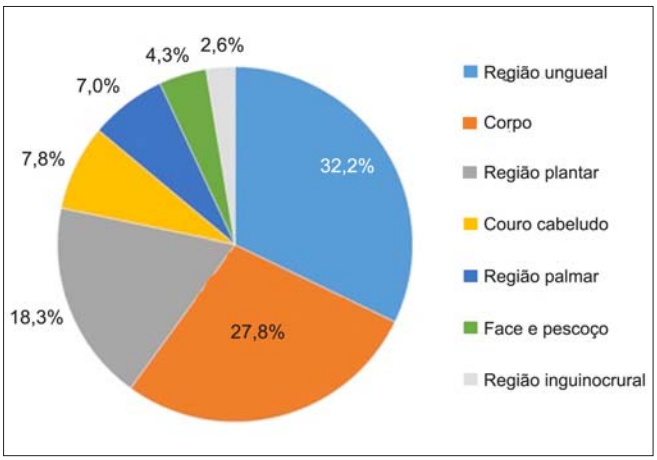

Figura 2. Frequência das micoses superficiais conforme as regiões anatômicas afetadas.

O fungo mais identificado foi *Candida* spp. (40,4%) Entre os dermatófitos, representando também o total de 40,4% dos agentes etiológicos, a maioria foi (90,5%) por *Trichophyton mentragraphytes* seguido igualmente (4,7%) pelos *Epidermophyton floccosum* e *Microsporum canis*. Em cinco casos (9,6%) foram isolados *Malassezia* spp. e *Trichosporon beigelli* (3,8%), e um caso (1,9%) de cada por *Hortaea werneckii*, *Aspergillus* spp. e *Acremonium* spp. (Tabela 1).

Quanto aos agentes etiológicos isolados correlacionados às regiões anatômicas afetadas, *Candida* spp. geralmente foi a ungueal (42,8%). O *T. mentragraphytes* afetou igualmente (26,3%) as regiões ungueal e do corpo, enquanto que *E. floccosum* e *M. canis* comprometeram respectivamente o corpo e o couro cabeludo. Todos os cinco casos de *Malassezia* spp. afetaram o corpo. Em dois casos por *Trichosporon beigelli,* as regiões comprometidas

foram a ungueal e a inguinocrural. Em cada um dos casos por *Hortaea werneckii,* o fungo foi isolado da região palmar e os *Aspergillus* spp. e *Acremonium* spp. ambos na região ungueal (Tabela 02).

Tabela 1 - Frequência dos agentes etiológicos identificados nas micoses superficiais

ESPÉCIE	Nº DE PACIENTES	%
Candida spp.	21	40,4%
Trichophyton mentagraphytes	19	36,5%
Malassezia spp.	5	9,6%
Trichosporun beigelli	2	3,8%
Microsporum canis	1	1,9%
Hortaea werneckii	1	1,9%
Aspergillus spp.	1	1,9%
Acremonium spp.	1	1,9%
Epidemophyton floccosum	1	1,9%
Total	52	100,0%

Tabela 2 - Os agentes etiológicos identificados conforme as regiões anatômicas afetadas

	Região Ungueal	Corpo	Região plantar	Couro cabeludo	Região palmar	Face e pescoço	Região inguinocrural	Total	%
Candida spp.	9	4	6	0	2	0	0	21	40,4%
T. mentragraphys	5	5	4	3	0	2	0	19	36,5%
Malassezia spp.	0	5	0	0	0	0	0	5	9,6%
T. beigelli	1	0	0	0	0	0	1	2	3,8%
E. floccosum	0	1	0	0	0	0	0	1	1,9%
M. canis	0	0	0	1	0	0	0	1	1,9%
H. werneckii	0	0	0	0	1	0	0	1	1,9%
Aspergillus spp.	1	0	0	0	0	0	0	1	1,9%
Acremonium spp.	1	0	0	0	0	0	0	1	1,9%

DISCUSSÃO

Nos 131 prontuários dos pacientes revisados com suspeitas clínicas de infecções fúngicas superficiais foram realizados exames micológicos (direto e cultura) na minoria (41,2%) das amostras. Na maioria (58,8%) dos pacientes foi prescrita a terapêutica sem exames micológicos prévios e demonstrou as dificuldades em se determinar a incidência na maioria das amostras, sendo que as estimativas demostram que aproximadamente 25% da população geral apresentem micoses superficiais.

As dificuldades em se determinar a incidência das micoses possivelmente ocorrem por não precisarem de notificação obrigatória, sintomatologia considerada simples e baixa procura por assistência médica. Estes fatores podem ocasionar os tratamentos inadequados e automedicados tornando-os ineficazes e onerosos. O diagnóstico micológico é de fundamental importância, pois permite confirmar a etiologia das infecções fúngicas, estabelecer a terapêutica correta, correlacionar os resultados obtidos com a situação socioeconômica da população afetada e aplicar medidas profiláticas baseadas na espécie identificada.

Entre as causas das micoses superficiais no presente estudo, os dermatófitos foram responsáveis por 40,4% dos casos, sendo a enfermidade fúngica comum entre as infecções dermatológicas. O gênero *Trichophytonse* destaca-se como o mais frequentemente encontrado nas dermatofitoses, representado majoritariamente pelas espécies *T. rubrume e T. Mentagraphyte*.[12,13] No presente trabalho, a espécie mais isolada deste gênero foi o *T. mentagraphytes* (90,48%), corroborando com os dados encontrados por Shunemann M et al. e Schoeler AP et al.[13,14] na região sul do Brasil. Porém, em apenas um caso de tinha do corpo foi isolado *E. foccosun*. Estas espécies são antropofílicas e parasitam preferencialmente os seres humanos de maneira crônica e lenta, sem induzir grandes alterações imunológicas, sugerindo que estejam mais adaptadas à espécie humana.

Em diversas regiões do mundo, o *T. rubrum* foi o agente etiológico mais relacionado às afecções no homem, principalmente nas tineas ungueais e pedis.[12] Entretanto, este dermatófito foi encontrado em apenas um caso e causando tinha do couro cabeludo sem sinais inflamatórios. Trata-se de um fungo zoofílico podendo causar lesões inflamatórias e exuberantes. Fatores como condições climáticas, práticas sociais, deslocamentos cada vez mais frequentes e hábitos de higiene certamente contribuem para as variações epidemiológicas dos dermatófitos.

Um dos componentes da microbiota normal nos humanos é a *Candida,* que pode se proliferar facilmente nos indivíduos com deficiência imunológica ou traumas cutâneos, possibilitando portas de entrada para infecções fúngicas oportunistas. O patógeno oportunista mais reportado nos estudos tem sido a *Candida* e podendo causar infecções fúngicas superficiais, como relatado neste trabalho, bem como infecções mais graves, como a candidíase invasiva.[12,13] As espécies de *Candida* spp. são os principais agentes etiológicos isolados em onicomicoses, corroborando com os nossos achados conforme a região anatômica afetada, observados nos estudos realizados no Rio de Janeiro, Porto Alegre e Asunción.[15]

Malassezia spp. é uma levedura lipofílica frequentemente encontrada nas regiões tropicais e subtropicais e causando a pitiríase versicolor, uma das principais micoses superficiais. Este fungo pode afetar entre 40% a 50% dos indivíduos de determinadas regiões geográficas e grupos étnicos.[16] Mesmo com a população do presente trabalho proveniente de uma região litorânea, a incidência foi baixa e possivelmente pelo diagnóstico fácil e tratamento baseado somente nos achados clínicos das lesões.

Os fungos filamentosos não dermatófitos, geralmente com *habitat* geofílico, são prevalentes nas áreas de clima tropical e subtropical. Causam frequentemente infecções nos pacientes imunodeprimidos, podendo afetar pacientes imunocompetentes, e, principalmente, nos que manuseiam solos e plantas.[15] Foram isolados neste estudo apenas dois casos de *Trichosporum beigelli*, um caso de *Aspergillus* spp. e um caso de *Hortaea werneckii*. Apesar de muito frequente em áreas litorâneas, o *Aspergillus* spp. apresentou baixa incidência na população estudada.

O *Hortaea werneckii* é um fungo demácio e saprófita isolado nas plantas, madeiras, amostras de águas marinhas, moluscos, solos com concentração salina elevada e, inclusive, nas areias secas e úmidas das praias oceânicas de Itajaí em 2006.[17] Este fungo causa uma dermatomicose rara e cosmopolita, mais frequente nas áreas litorâneas de clima tropical e subtropical, denominada de *tinea nigra*.[17-19] Desde 1995, a enfermidade tem sido relatada por Rossetto & Bella Cruz no litoral de SC, com frequência, inclusive com formas análogas da natureza como a formação rochosa "Bico do Papagaio" e do manguezal "Couer de Voh" e curiosas como em "coração", padrão salpicada em "sal e pimenta", cura espontânea com a identificação do *H. werneckii*.[18,19] No caso relatado de tinha negra, a mácula hipercrômica foi única e localizada na região palmar, considerada manifestação clínica típica sendo poucos os relatos com envolvimento bilateral palmar e plantar.

A região ungueal, sendo inclusos mãos e pés, representou 32,7% dos sítios anatômicos acometidos. A região plantar também apresentou alto índice de lesões fúngicas (19,3%). Esta porcentagem pode estar relacionada ao uso de sapatos fechados, associado ao suor e secagem inadequada dos pés, o que pode ocasionar um ambiente propício para o crescimento fúngico. Os indivíduos mais acometidos foram os compreendidos na sétima década de vida, devido a fatores que contribuem para o surgimento destas infecções, como o alto índice de lesão tecidual e a diminuição do crescimento ungueal em relação a população mais jovem.[4]

O sexo feminino foi o mais afetado entre as amostras fúngicas positivas (53,8%), resultado também observado nas cidades de Porto Alegre, São José do Rio Preto e Natal.[8,13] Este achado se deve possivelmente pelo fato de as mulheres realizarem atividades profissionais com maior contato com produtos químicos ou de limpeza, exposição à água ou umidade e procura do tratamento médico das micoses devido aos maiores cuidados com a estética. As unhas foram os sítios mais acometidos, assim como o sexo feminino, confirmando a tendência mostrada por outros autores, fato este podendo estar relacionado aos materiais de manicure e pedicure não esterilizados corretamente e constituir importante fômites de infecção.[13]

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluímos que as dermatofitoses e as leveduras são as micoses superficiais mais incidentes no meio estudado, e os gêneros *Candida* spp. e *Trychophyton mentagraphytes* foram os agentes etiológicos mais prevalentes. O sexo feminino é o mais acometido, sendo a região ungueal a região anatômica mais frequentemente afetada.

Os estudos sobre micoses superficiais são importantes para o conhecimento da epidemiologia local, podendo assim identificar os agente etiológicos mais incidentes em uma determinada região e fornecer um tratamento e cuidado adequados para cada paciente. Desta maneira, reduz-se o risco que o tratamento clínico, apenas baseado na suspeita clínica, pode oferecer, tais como o risco do consumo farmacológico exacerbado, insucesso terapêutico, seleção e indução de resistência aos microrganismos.

Agradecimentos

Agradecemos aos nossos familiares e amigos, por serem nossa base e estarem ao nosso lado em todas as adversidades. Agradecemos ao farmacêutico bioquímico responsável pelo Laboratório Escola de Análises Clínicas, Fernando Cordeiro, pelo apoio e auxílio no desenvolvimento desta pesquisa. Este trabalho foi financiado pela bolsa de iniciação científica do artigo 170 do estado de Santa Catarina.

Abstract

Objectives: *They were investigated and characterized the clinical and the epidemiological aspects of superficial mycoses in order to determine the epidemiological profile of superficial fungal infections through mycological exams in patients attended in the municipality of Itajaí, Santa Catarina (SC).* ***Methods:*** *A cross-sectional and retrospective study of the mycological exams performed at the Laboratory of Clinical Analysis was carried out and recorded in the medical records of the patients attended from January 2014 to June 2016.* ***Results:*** *The most of patients it was sex female, usually between 61 and 70 years, and with the affected nail region. The most identified was* Candida *spp, being some rare as:* Aspergillus *spp,* Acremonium *spp e* Hortaea werneckii. ***Conclusion:*** *The female was the most affected and the nail site was the anatomical site most frequently affected. The epidemiological studies of superficial mycoses with identification of the etiological agents support for knowledge of regional prevalence corroborating in better clinical management with diminution of therapeutic based only on clinical suspicion, therapeutic failure and drug resistance.*

Keywords

Mycoses; Dermatomycosis; Candida*; Opportunistic infections; Epidemiology*

REFERÊNCIAS

1. Martins EA, Guerrer LV, Cunha KC, Soares MM, de Almeida MT. [Onychomycosis: clinical, epidemiological and mycological study in the municipality of São José do Rio Preto]. Rev Soc Bras Med Trop. 2007;40(5):596-8. [Article in Portuguese]
2. Nakamura HM, Cladeira SM, AVILA MAG. Incidência de infecções fúngicas em pacientes cirúrgicos: uma abordagem retrospectiva. Revista SOBECC. São Paulo. 2013;18(3):49-8.
3. Capote AM, Ferrara G, Panizo MM, Garcia N, Alarcón V, Reviakina V, Dolande M. Micosis superficiales: casuística del Departamento de Micología del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Caracas, Venezuela (2001-2014).Investigación Clinica. 2016;57(1):47-8.
4. Polo A, Grazziotin NA. Micoses superficiais em idosos residentes em entidade beneficente na Região Norte do estado do Rio Grande do Sul. Rev Bras Anal Clin. 2011;43(1):29-3.
5. Brilhante RS, Paixão GC, Salvino LK, Diógenes MJ, Bandeira SP, Rocha MF, et al. Epidemiology and ecology of dermatophytoses in the City of Fortaleza: Trichophyton tonsurans as important emerging pathogen of Tinea capitis. Rev Soc Bras Med Trop. Fortaleza. 2000;33(5):417-5. [Article in Portuguese]
6. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-vacarri EM, Takahashi de melo N. Tratado de Micologia Médica. Lacaz. 9a. ed. São Paulo: Sarvier. 2002. p. 252-340.
7. Morais PM, Maria GSC, Maria ZMF. Aspectos clínicos de pacientes com pitiríase versicolor atendidos em um centro de referência em Dermatologia Tropical na cidade de Manaus (AM), Brasil. An. Bras. Dermatol. [Internet]. 2010;85(6):797-803. Available from: http://www.scielo.br/scielo. php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962010000600004&lng=en.http://dx.
8. Calado NB, Souza F Jr, Gomes NO, Cardozo FR, Zaror LC, Milan EP. Fusarium nail and skin infection: A report of eight cases from Natal, Brazil. Mycopathologia. 2006;161(1):27-1.
9. Criado PR, Dantas KC, Benini LV, Oliveira CB, Takiguti FA, Vasconcellos C. Micoses superficiais e os elementos da resposta imune. An Bras Dermatol. São Paulo. 2011;86(4):726-31.
10. Longo DL, Fauci AS, Kasper DL. Medicina Interna de Harrison. 18ª edição. Porto Alegre: Artmed Editora. 2013. p.2.
11. Martins EA, Guerrer LV, Cunha KC, Soares MM, de Almeida MT. Onychomycosis: clinical, epidemiological and mycological study in the municipality of São José do Rio Preto. Rev Soc Bras Med Trop. 2007 Sep-Oct;40(5):596-8. [Article in Portuguese]
12. Aquino VR, Constante CC, Bakos L. Frequência das dermatofitoses em exames micológicos em Hospital Geral de Porto Alegre, Brasil. An Bras Dermatol. 2007;82(3):239-4.
13. Shunemann M, Nunes PR, Oliveira MS. Prevalência de micoses superficiais em pacientes ambulatoriais da região metropolitana de Porto Alegre, RS. Rev Bras Anal Clin. 2016;48(1):63-7.
14. Schoeler AP, Sguissardi CH, Bernardi E, Cembranel LR, Fuentefria AM. Prevalência de dermatófitos na rotina de micologia em hospital particular de médio porte na cidade de Chapecó, estado de Santa Catarina, Brasil. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. 2010;31(1):103-6.
15. Araújo AJG, Bastos OMP, Souza MAJ, Oliveira JC.Ocorrência de onicomicose em pacientes atendidos em consultórios dermatológicos da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. An Bras Dermatol. 2003;78:299-308.
16. Morais PM, Cunha Mda G, Frota MZ. Clinical aspects of patients with pityriasis versicolor seen at a referral center for tropical dermatology in Manaus, Amazonas, Brazil. An Bras Dermatol. 2010;85(6):797-803. [Article in English, Portuguese]
17. Balestieri Filho LA. Isolamento do fungo Hortaea werneckiinas areias secas e úmidas das praias oceânicas de Itajaí, SC, Brasil.Trabalho de Conclusão de Curso (TCC). Faculdade de Medicina da Univali, 2006.
18. Rossetto AL, Cruz RC. Tinea nigra in geographical forms of "heart" and "parrot beak". An Bras Dermatol. 2011;86(2):389-90. [Article in English, Portuguese]
19. Rossetto AL, Cruz RC, Haddad Junior V. Double-blind study with the topical isoconazole and terbinafine for the treatment of one patient bilateral Tinea nigra plantaris and suggestions for new differential diagnoses. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2013;52 (2):125-8.

Correspondência
Aline Didoni Fajardo
Rua Uruguai, 458 - Centro
88302-202 – Itajaí-SC, Brasil

Diagnóstico parasitológico em amostras fecais no laboratório de análises clínicas: comparação de técnicas e custo de implantação

Parasitological diagnosis in fecal samples in the laboratory of clinical analyses: comparison of techniques and cost of implantation

Eduarda Peixoto Azevedo[1]
Elida Mateus de Almeida[1]
Juliana da Silva Matos[1]
Andreza Rodrigues Ramos[1]
Mayara Perlingeiro de Siqueira[2]
Ana Beatriz Monteiro Fonseca[3]
Alynne da Silva Barbosa [4]
Otilio Machado Pereira Bastos[5]
Claudia Maria Antunes Uchôa[6]

Resumo
Objetivo: Esse estudo objetivou comparar as técnicas de Baermann-Moraes, Faust et al., Ritchie modificada, Lutz e Kato-Katz, para o diagnóstico de parasitoses intestinais e estimar o custo de implantação de cada uma dessas técnicas em um laboratório de análises clínicas. **Métodos**: Foram analisadas 374 amostras de fezes pelas cinco técnicas. **Resultados:** Das amostras estudadas, 292 foram analisadas pela técnica de Baermann & Moraes, sendo negativas. A positividade, considerando as demais técnicas, foi de 25,66%. Ritchie modificada detectou positividade em 20,1% das amostras com maior eficiência para *Blastocystis* sp., seguida por Lutz (15,8%), Faust et al. (12,8%) e Kato-Katz (1,1%). Os índices de concordância Kappa entre as técnicas utilizadas, excluindo Kato-Katz, foram moderados, e de Kato-Katz com as outras técnicas parasitológicas foi fraca. Foi evidenciada ausência de diferença significativa somente entre as técnicas de Faust et al. e Lutz. O Kato-Katz foi considerado uma técnica inadequada para o diagnóstico de parasitoses intestinais, frente ao declínio da frequência de geohelmintíase e permanência ou aumento das infecções determinadas por protozoários. A técnica de Lutz foi a que apresentou menor custo de implantação, seguida por Baermann & Moraes, Kato-Katz, Ritchie modificado e Faust et al., devendo ser a técnica de escolha quando o parâmetro for econômico. **Conclusão:** Considerando o parâmetro positividade preconiza-se a implantação de Ritchie modificada, embora a associação de técnicas gere resultados mais eficazes. A associação de técnicas com melhores resultados foi de Ritchie modificado e Lutz ou Ritchie modificado e Faust et al.

Palavras-chave
Testes diagnósticos de rotina; Custos e análise de custo; Análise parasitológica

INTRODUÇÃO

As parasitoses intestinais são doenças que refletem as condições sanitárias de uma população e ainda hoje preocupam devido à negligência com que têm sido tratadas e por ocorrerem, de forma heterogênea, em diversas regiões do país.(1)

A infecção pode ser favorecida por fatores associados ao hospedeiro, como idade, estado nutricional, genéticos, culturais, comportamentais e profissionais. Também são essenciais fatores relacionados ao parasito, como a resistência ao sistema imune do hospedeiro e os mecanismos de escape vinculados às transformações bioquímicas e imunológicas verificadas ao longo de seu ciclo de vida.(2)

Na rotina laboratorial, o diagnóstico das parasitoses intestinais ocorre, principalmente, mediante a utilização de técnicas parasitológicas em amostras fecais, pois apresentam custo baixo e procedimento técnico simples. A literatura disponibiliza várias técnicas com fundamentos diferen-

[1]*Discente de Graduação do Curso de Biomedicina da Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói-RJ, Brasil.*
[2]*Estudante de Mestrado do Pós-Graduação do Programa de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói-RJ, Brasil.*
[3]*Docente do Laboratório de Estatística, Departamento de Estatística, Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói-RJ, Brasil.*
[4]*Docente da Disciplina de Parasitologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia (MIP), Instituto Biomédico (CMB), Universidade Federal Fluminense (UFF/RJ) e pós-doutoranda do Laboratório de Toxoplasmose, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro-RJ, Brasil.*
[5]*Docente da Disciplina de Parasitologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia (MIP), Instituto Biomédico (CMB), Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói-RJ, Brasil.*
[6]*Doutor. Professor associado da Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói-RJ, Brasil.*

Instituição: Laboratório de Bioagentes Ambientais, Departamento de Microbiologia e Parasitologia (MIP), Instituto Biomédico (CMB), Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói-RJ, Brasil.
Suporte Financeiro: Capes e Proppi - Proad UFF

Artigo recebido em 01/06/2017
Artigo aprovado em 18/09/2017
DOI: 10.21877/2448-3877.201700586

tes, como as técnicas de sedimentação e flutuação, que permitem concentrar ovos, cistos, oocistos e larvas de diversas espécies de parasitos intestinais em uma amostra fecal (p. ex. ovos de *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*, cistos de *Giardia duodenalis*, *Endolimax nana* e *Entamoeba coli*), viabilizando determinar sua presença e sua identificação.[3]

O diagnóstico clínico das parasitoses intestinais é impreciso, pois baseia-se em manifestações clínicas, que, nesse caso, podem variar desde quadros assintomáticos a outros de sintomatologias inespecíficas, tais como diarreia, náuseas, desconforto abdominal, dentre outros.[4]

Portanto, o diagnóstico laboratorial desempenha um papel importante no diagnóstico das infecções/doenças parasitárias, sendo a chave para a seleção da conduta terapêutica adequada.[5]

Chaves et al.[6] apontaram que, apesar da existência de inúmeras técnicas, quantitativas e qualitativas, propostas para o exame parasitológico de fezes, todas têm sido objeto de críticas diversas. No laboratório de rotina preconiza-se uma combinação de técnicas com o objetivo de aumentar a acurácia diagnóstica e, consequentemente, diminuir os resultados falsos negativos, principalmente quando há baixa carga parasitária, uma vez que a utilização combinada de várias técnicas com fundamentos distintos é indicada para detectar infecções intestinais causadas por parasitos, tendo em vista sua variabilidade morfológica e biológica.[7]

A comparação de técnicas tem sido estudada por diversos autores [6,8-11] ao longo dos anos, objetivando avaliar sua eficiência no diagnóstico parasitológico.

Baseado nessa diversidade de técnicas para pesquisa de parasitos em amostras fecais, esse estudo comparou cinco diferentes técnicas coproparasitológicas, objetivando ampliar o arcabouço teórico sobre o tema, bem como estimar o custo de sua implantação em um laboratório de Análises Clínicas.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras fecais utilizadas foram oriundas de estudantes e funcionários de sete escolas municipais de Niterói-RJ, sendo elas: Anísio Teixeira (A), Santos Dumont (B), Noronha Santos (C), Levi Carneiro (D), Dario de Souza Castello (E), André Trouche (F) e Antônio Coutinho (G). Foram envolvidos os estudantes do 1º ano do Ensino Fundamental I ao 7º ano do Ensino Fundamental II e funcionários. O aceite de participação ao projeto foi voluntário, sendo os escolares representados por seus pais e/ou responsáveis em caso de menores de 18 anos, mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Para a realização das técnicas parasitológicas foi entregue a cada participante um kit com três recipientes para coleta de amostras fecais, sendo dois com conservante (Railliet & Henry), e um sem conservante. O conservante foi escolhido por ser utilizado com excelentes resultados na rotina de coleta de amostras fecais do laboratório de Bioagentes Ambientais da UFF, tendo em sua composição solução salina, ácido acético e formol. A amostra fecal sem conservante foi processada segundo a técnica de Baermann & Moraes[12] para pesquisa de larvas de nematoides. As amostras coletadas com conservante foram submetidas às técnicas de Ritchie[13] modificado por Young et al.,[14] Faust et al.,[15] Lutz[16] e Kato-Katz.[17] As amostras foram processadas e analisadas na Universidade Federal Fluminense no Departamento de Microbiologia e Parasitologia (MIP). Os resultados obtidos foram analisados de forma descritiva, a concordância de positividade/negatividade por amostra entre as técnicas foi analisada pelo teste de McNemar com intervalo de confiança de 5% e a concordância geral por meio do índice de concordância (Kappa).[18]

Com relação ao custo de implantação utilizou-se a contabilidade de custo[19] como parâmetro para os cálculos da implantação das técnicas parasitológicas em laboratório de Análises Clínicas. Foi considerado como custo de implantação o levantamento de preços de materiais duráveis e materiais descartáveis para a realização de cada técnica, ou seja, o custo unitário do produto. No caso de materiais duráveis e descartáveis foi considerado o preço de menor valor, na análise de até três empresas. Foi pesquisada para materiais duráveis e equipamentos a taxa de depreciação para possibilitar avaliar o custo benefício na compra desses materiais e equipamentos.

Os cálculos utilizados foram: custo dos materiais duráveis, custo dos materiais degradáveis, custo unitário da análise, custo total, depreciação dos materiais duráveis e equipamentos, depreciação anual, cálculo relativo a um funcionário fictício e o custo unitário direto da mão de obra. No custo de materiais duráveis e no custo de materiais descartáveis considerou-se como material de uso geral uma pisseta (durável), um par de luvas (descartável) e cinco mililitros de álcool 70% por técnica (descartável). Para efeito de cálculo da técnica não se retiraram os equipamentos, embora esses possam determinar um aumento no custo dessa técnica, pois calculou-se o custo de implantação em um laboratório que estivesse sendo criado e não o custo de execução da técnica na rotina.

Ética

O estudo foi vinculado ao projeto da Universidade Federal Fluminense e Fundação Municipal de Educação de Niterói intitulado "Parasitoses intestinais em escolares de Niterói, RJ: frequência, conhecimentos e profilaxia" que obteve parecer favorável em 22 de abril de 2014 no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina/Hospital Universitário Antônio Pedro, possuindo registro de identifica-

ção no CEP, CMM/HUAP nº 621.193 e CAAE nº 25061913.0.0000.5243 tendo sido desenvolvido de agosto de 2014 a fevereiro de 2016.

RESULTADOS

Foram analisadas amostras fecais de 374 indivíduos. Todas as amostras frescas (n= 292) entregues foram negativas pela técnica de Baermann & Moraes. Considerando as demais técnicas utilizadas, 96/374 (25,7%) foram positivas por uma ou mais técnicas. Houve maior frequência de protozoários que de helmintos.

A técnica de Ritchie modificada detectou parasitos em 75 (20,1%) amostras, Lutz em 59 amostras (15,8%), Faust et al. em 48 (12,8%) e Kato-Katz em 4 amostras (1,1%) (Tabela 1). A análise quantitativa na técnica de Kato-Katz, para *A. lumbricoides* foi de 72, 58, 163 e 47 ovos e *T. trichiura* de 13 ovos, em associação com *A. lumbricoides*. Nas amostras positivas, Faust et al. e Lutz apresentaram resultados concordantes em 33 amostras (k=0,55), Ritchie e Faust et al. em 38 amostras (k=0,55), Ritchie e Lutz em 42 amostras (k=0,55), sendo a concordância moderada. As quatro técnicas foram capazes de detectar *Ascaris lumbricoides* em três amostras.

Tabela 1 - Resultado de positividade para parasitos intestinais por cada técnica utilizada de diagnóstico coproparasitológico de 374 indivíduos de Niterói-RJ

Parasito	R	F	L	K
Blastocystis sp.	30	5	24	-
E. coli	5	8	9	-
E. histolytica/ E. dispar	5	4	3	-
E. nana	4	7	3	-
G. intestinalis	8	7	5	-
T. trichiura	-	3	-	-
A. lumbricoides	3	3	2	3
I. butschilli	-	1	1	-
E. vermicularis	-	1	1	-
Entamoeba coli e *Entamoeba histolytica/ Entamoeba dispar*	6	5	3	-
Blastocystis sp. e *Endolimax nana*	5	-	3	-
Entamoeba coli e *Blastocystis* sp.	5	-	3	-
T. Trichiura e *Entamoeba coli*	-	1	-	-
E.coli, E. histolytica/E. dispar e *Blastocystis* sp.	2	1	-	-
Blastocystis sp., *E. nana* e complexo *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar*	-	-	1	-
A. lumbricoides e *T. Trichiura*	1	1	1	1
Entamoeba coli e *I. butschlii*	1	1	-	-
Total	75 (20,1%)	48 (12,8%)	59 (15,8%)	4 (1,1%)

R - Ritchie modificado, L - Lutz, K - Kato-Katz, F - Faust et al.

O grau de concordância entre a técnica de Kato-Katz e as técnicas de Ritchie modificado, Faust et al. e Lutz foram de k=0,057, k=0,137 e k=0,077, sendo todas fracas, respectivamente. Os resultados de significância obtidos pelo teste de McNemar estão apresentados na Tabela 2.

Os resultados dos custos de materiais duráveis e descartáveis para implantação das cinco técnicas de forma individualizada estão apresentados na Tabela 3. Considerando o custo da técnica, associado ao pré-processamento, uso geral e material de coleta, a técnica de Faust et al. foi a que apresentou maior valor (R$ 5.612,38) e a técnica de Kato-Katz a de menor valor (R$1.896,74).

Tabela 2 - Resultados do grau de concordância e discordância entre as técnicas parasitológicas para pesquisa de parasitos intestinais em amostras fecais de 374 indivíduos de Niterói, RJ

Técnicas de Diagnóstico	Teste estatístico de McNemar
Faust et al. X Ritchie	0,000*
Faust et al. X Lutz	0,117
Faust et al. X Kato-Katz	0,000*
Ritchie modificado X Lutz	0,033*
Ritchie modificado X Kato	0,000*
Lutz X Kato Katz	0,000*

P> 0,05 Ausência de discordância, P<0,05 ausência de concordância

Tabela 3 - Resultados dos custos de materiais duráveis e descartáveis para realização das técnicas de Faust et al., Ritchie modificado, Lutz e Baermann-Moraes. Valores absolutos de cada material e o cálculo da quantidade utilizada para processamento de uma amostra fecal

Técnicas	Custo dos materiais duráveis	Custo dos materiais descartáveis	Equipamentos necessários para a técnica***	Total
Uso Geral	R$ 5,40	R$ 0,40	R$ 1.860	R$1.865,80
Pré-Processamento	R$ 32,70	R$ 0,60		R$ 33,30
Kit de coleta	R$ 28,00	R$ 1,39	-	R$ 29,39
Faust et al.	R$ 55,67	R$ 0,22	R$ 3.268	R$ 3683,89
Ritchie modificado	R$ 14,85	R$ 0,22	R$ 2.303	R$ 2318,07
Lutz	R$ 18,00	R$ 0,44**	-	R$ 18,44
Baermann-Moraes*	R$ 121,84	R$ 0,60	-	R$ 122,44
Kato Katz*	R$ 0,15	R$ 1,40	-	R$ 1,55

*Os valores de pré-processamento não devem ser somados as técnicas de Baermann & Moraes e Kato Katz
**Se o filme de PVC utilizado na técnica de Lutz for retirado, o custo dos materiais descartáveis seria de 0,082 centavos
*** a inserção do valor de equipamentos deveu-se a este cálculo referir-se à implantação das técnicas em laboratório de análises clínicas novo, sem nenhuma infraestrutura prévia

Na Tabela 4 demonstra-se o resultado do custo de depreciação dos materiais duráveis e equipamentos das técnicas de Faust et al., Ritchie modificado, Lutz e Baermann & Moraes.

O custo de implantação unitário de cada técnica está apresentado na Tabela 5.

Tabela 4 - Resultado da depreciação de materiais duráveis das técnicas de Faust et al., Ritchie modificado, Lutz e Baermann-Moraes

Materiais/ equipamentos/técnicas	Depreciação (por mês)
Microscópio	R$ 15,50
Centrífuga	R$ 19,19
Balança analítica	R$ 8,04
Uso Geral	R$ 0,027
Pré processamento	R$ 0,18
Kit de coleta	R$ 0,15
Lutz	R$ 0,1
Faust et.al.	R$ 0,30
Ritchie	R$ 0,08
Baermann-Moraes	R$ 0,67
Kato-Katz	R$ < 0,001

Tabela 5 - Resultado do custo unitário de implantação das técnicas de Lutz, Faust et al., Kato-Katz, Ritchie modificado e Baermann-Moraes em laboratórios de análises clínicas

Técnicas analisadas	Custo unitário
Faust et.al	R$ 47,58
Ritchie, modificada por Young	R$ 38,98
Kato- Katz	R$ 20,22
Baermann-Moraes	R$ 20,09
Lutz	R$ 19,60
Total	R$ 146,53

*Utilização da fórmula de custo geral. Esses valores correspondem ao gasto no primeiro mês de implantação
* Foram excluídos: energia elétrica, água, lucro do laboratório e variáveis externas (limpeza, manutenção)

A técnica de Lutz apresentou com equipamento custo de 19,60 resultante da soma de: 0,81 (mão de obra) + 0,1 (material durável) + 0,35 (material durável geral) + 15,50 (microscópio) + 0,44 (material descartável) + 0,40 + 0,60+1,39 (materiais descartáveis gerais). A retirada do custo com equipamento determinaria um custo bem menor (19,60 - 15,50 = 4,10).

DISCUSSÃO

A positividade para parasitos intestinais, considerando positividade por pelo menos uma das técnicas utilizadas, foi de 25,7% (96/374), sendo superior à obtida nos estudos de Cavagnolli et al.,[20] Ngrenngarmlet et al.,[21] Castro et al.[22] e Ferreira et al.[23] Entretanto, Miotto et al.[24] apresentaram resultados com positividade similar (24,56%). A diferença entre as positividades, nesses diferentes estudos, pode ser associada a diversos fatores, como técnicas empregadas, localidade do estudo, condições socioeconômicas e faixa etária do grupo estudado.

Não foi encontrada nenhuma amostra positiva por meio da técnica de Baermann & Moraes, concordando com os resultados de Carvalho et al.,[9] que justificaram essa negatividade pela inexistência ou baixa frequência de *Strongyloides stercoralis* no local onde viviam os sujeitos do estudo. Sugere-se que a negatividade também pode ter sido influenciada pela não entrega da amostra sem conservante por 82 participantes, impossibilitando a realização da técnica.

A técnica que demonstrou maior eficiência no diagnóstico foi a de Ritchie modificada (20,1%). Carvalho et al.[9] observaram que o Coprotest®, que usa como fundamento a técnica de Ritchie modificada por Young et al., apresentou melhor resultado como técnica única, bem como no diagnóstico de *Blastocystis* sp. Nesse estudo,

Ritchie modificada também obteve melhores resultados para detecção de *Blastocystis* sp.

A segunda técnica de maior detecção parasitária foi a de Lutz apresentando positividade em 15,8% das amostras. A espécie mais detectada também foi *Blastocystis* sp., embora com resultados inferiores à Ritchie modificada. Por ambas serem técnicas de concentração por sedimentação, a quantidade de detritos na lâmina foi grande, o que tornou a leitura mais cansativa. Carvalho et al.,[25] na comparação entre TFT® e Lutz, sugeriram que a centrifugação adicional do TFT®, que também existe em Ritchie modificada, pode ter favorecido a maior concentração de formas evolutivas de parasitos. Sugere-se que o encontro de *Blastocystis* sp., nessa técnica, contrariando os resultados de Alarcón et al.,[26] deve-se ao uso de conservante na coleta de duas das três amostras, o que pode ter favorecido ao não rompimento do protozoário nas etapas subsequentes do processamento técnico.

Nesse estudo, a técnica de Faust et al. apresentou positividade em 12,8% das amostras, diagnosticando todos os parasitos que foram encontrados, incluindo protozoários e helmintos. Observaram-se resultados, em número absoluto, superiores ou iguais quando se comparou a detecção da maioria dos protozoários por Faust et al. e Ritchie modificada, embora tenha sido evidenciada diferença significativa entre as técnicas. Alyani et al.,[11] comparando Faust et al. e Ritchie, verificaram maior eficiência de Ritchie na detecção de protozoários intestinais, o que difere desse estudo. No presente estudo, a técnica de Faust et al. mostrou importância na detecção não só de protozoários como também na de *Trichuris trichiura*, sendo 4/5 amostras positivas para esse helminto detectadas somente por meio dessa técnica.

A técnica de Kato-Katz apresentou menor capacidade de detecção entre as técnicas analisadas. Com relação aos helmintos foram encontrados por Kato-Katz, *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*. Essas amostras também foram positivas por pelo menos uma das demais técnicas utilizadas. No caso de *T. trichiura*, Kato-Katz só detectou o parasito em uma amostra, gerando resultados falso-negativos nas outras quatro. Tal fato pode ter sido devido à leitura de uma única lâmina nessa técnica. Tarafder et al.,[10] Mendes et al.[7] e Nunez-Fernandez et al.[27] apontaram a técnica de Kato-Katz como melhor opção para o diagnóstico de geohelmintos, como *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*, o que está em desacordo com os resultados desse estudo. Pensa-se que a técnica de Kato-Katz, apesar de sua fácil execução, não seria adequada para o diagnóstico de parasitos intestinais, pois a quantidade de amostra utilizada é pequena e, portanto, pouco representativa do que realmente está sendo eliminado no conteúdo fecal do hospedeiro, como proposto por Brandelli et al.[28] para justificar as diferenças de resultados obtidos na comparação entre as técnicas de sedimentação espontânea e Paratest®. Outro fator que contribuiria para sua baixa eficiência seria a distribuição irregular de formas evolutivas de parasitos nas fezes, como apontado por Krauth et al.[29] Sugere-se que o próprio movimento intestinal, em especial do intestino grosso, favoreça a concentração de formas evolutivas de parasitos na superfície do material fecal, o que pode interferir no resultado obtido, dependendo da porção da amostra utilizada no processamento da técnica. Não se discute aqui a eficiência de Kato-Katz para o diagnóstico de *S. mansoni*, uma vez que o parasito não foi encontrado nas amostras estudadas.

Além desses fatores, cabe lembrar que tem sido observado por vários autores[30,31] uma manutenção ou aumento da frequência de protozoários com redução de frequência de helmintos, o que também reforça a não adequação do uso do Kato-Katz como técnica única na rotina do diagnóstico de parasitos intestinais, ainda que em pesquisa de campo e reforçado pelo índice de concordância baixo com as demais técnicas.

Com relação aos custos de implantação, a técnica que apresentou menor custo foi a de Lutz, incluindo todos os parâmetros analisados. Apesar disso, todas as técnicas parasitológicas avaliadas nesse estudo apresentaram valor mínimo de R$ 19,60 e máximo de R$ 47,58, o que permite sua realização em laboratórios de análises clínicas, mesmo sem grande aporte financeiro. Os kits comerciais, como o Coprotest®, quando cotados em janeiro de 2016, apresentaram o valor de R$ 1.685,00, totalizando 360 unidades. Dessa forma, cada exame teria o custo de R$ 4,68, sendo o descartável. Cerqueira[8] afirmou que o *kit* Coprotest® apresenta como vantagens alto enriquecimento, detectando tanto protozoários quanto helmintos. Além disso, elimina o mau odor da amostra, simplifica o manuseio pelo técnico e requer pouco espaço. Se for levada em consideração a possível perda dos materiais duráveis e a possibilidade de acidentes nas etapas de processamento e lavagem de vidraria, os *kits* comerciais representam boas alternativas na rotina laboratorial. Mesmo com esse custo inicial, se for feito o cálculo do custo de implantação da técnica, essa técnica manteve-se dentro dos valores já apresentados (R$ 41,04, esse valor foi calculado segundo a fórmula de valor unitário).

A balança, o microscópio, a centrífuga e o funcionário fictício podem ser considerados como investimentos para o laboratório, pois serão usados por outros setores, não só no setor de Parasitologia. Por isso, o custeio das técnicas se torna mais acessível e baixo. Cabe lembrar que, na rotina, o custo das técnicas será inferior ao de implantação.

Considerando a questão custo de implantação *versus* capacidade de diagnóstico observou-se variação dentre

as técnicas analisadas, sendo a técnica de Lutz a mais indicada, pela simplicidade de procedimentos técnicos, baixo custo e amplo espectro de diagnóstico. A desvantagem dessa técnica estaria relacionada a maior necessidade de espaço para guarda das amostras até a leitura e necessidade de maior tempo para emissão do laudo.

A técnica de Ritchie modificada foi a que apresentou melhores resultados em relação à positividade, porém, a de Faust et al. foi a que detectou maior diversidade de espécies ou gêneros de parasitos. Ambas têm custo próximo e procedimentos técnicos mais complexos, que demandam maior treinamento do profissional. Faust et al. tem como desvantagem o maior tempo de execução, devido às múltiplas lavagens e a possibilidade de deformação de formas evolutivas pela exposição da amostra em solução de sulfato de zinco por tempo excessivo.

CONCLUSÃO

A escolha de técnicas para serem implementadas na rotina laboratorial no setor de Parasitologia envolve vários fatores. Cabe lembrar que, para garantir melhor resultado, a associação de técnicas resulta sempre em maior confiabilidade, principalmente quando se utilizam técnicas de fundamentos diferentes. Seguindo essa proposta, as técnicas mais indicadas seriam, objetivando maior positividade, Ritchie modificado e Lutz, seguido pela associação de Ritchie modificado e Faust et al.

Agradecimentos

Ao Núcleo de Ações Integradas da Fundação Municipal de Educação de Niterói, às Escolas Municipais de Niterói representados por seu corpo docente, discentes e responsáveis pela participação na coleta de amostras.

Abstract

Objective: *This study aimed to compare the techniques of Baermann-Moraes, Faust et al., modified Ritchie, Lutz and Kato-Katz for the diagnosis of intestinal parasitosis and to estimate the cost of implantation of each of these techniques in a clinical analysis laboratory.* ***Methods:*** *A total of 374 faecal samples were analyzed by the five techniques.* ***Results:*** *Of the samples studied, 292 were analyzed by the Baermann-Moraes technique and were negative. Positivity, considering the other techniques, was 25.66%. Modified Ritchie detected positivity in 20.1% of the samples with greater efficiency for* Blastocystis *sp., Followed by Lutz (15.8%), Faust et al. (12.8%) and Kato-Katz (1.1%). The Kappa agreement indexes between the techniques used excluding Kato-Katz were moderate and Kato-Katz with the other parasitological techniques was weak. It was evidenced absence of significant difference only between the techniques of Faust et al. and Lutz. Kato-Katz was considered an inadequate technique for the diagnosis of intestinal parasitosis, in the face of the decline in the frequency of geohelminthiasis and the permanence or increase of the infections determined by protozoa. Lutz presented the lowest implantation cost, followed by Baermann-Moraes, Kato-Katz, modified Ritchie and Faust et al., and should be the technique of choice when the parameter is economical.* ***Conclusion:*** *Considering the positivity parameter, the implementation of modified Ritchie is recommended, although the association of techniques yields more effective results. The association of best-performing techniques was between modified Ritchie and Lutz or modified Ritchie and Faust et al.*

Keywords

Diagnostic tests, Routine; Costs and cost analysis; Parasitological analysis

REFERÊNCIAS

1. Cruz PFF, Rezende DV, Penatti MPA, Guimarães EC, Pedroso RS; LIMA SC. Ações educativas com ênfase à prevenção de parasitoses intestinais em uma localidade rural no município de Uberlândia, MG. REBES. 2014;4(2):8-15.
2. Chieffi PP, Amato Neto V. Vermes, verminoses e a saúde pública. Cienc. Cult. 2003;55:41-3.
3. De Carli GA. Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas. São Paulo, Editora Atheneu p.58, 2007.
4. Oriehl TC, Ash LR, Ramachandran CP, Ottesen E. Medios Auxiliares para el Diagnóstico de las Parasitosis Intestinales. Geneva: Organización Mundial de la Salud, 1997.
5 .Machado ER, Santos DS, Costa-Cruz JM. Enteroparasites and commensals among children in four peripheral districts of Uberlândia, State of Minas Gerais. Rev Soc Bras Med Trop. 2008; 41(6):581-5.
6. Chaves A, Alcantara OSD, Carvalho ODS, Santos JSD. Estudo comparativo dos métodos coprológicos de Lutz, Kato-Katz e Faust modificado. Rev Saúde Públ. 1979;13:348-52.
7. Mendes CR, Teixeira ATLS, Pereira RAT, Dias LCDS. Estudo comparativo de técnicas parasitológicas: Kato-Katz e Coprotest®. Rev Soc Bras Med Trop. 2005;38(2):178-80.
8. Cerqueira FL. Coprotest: Metodologia confiável para o exame parasitológico de fezes. LAES/HAES. 1988;9(51):5-9.
9. Carvalho FM, Falção AO, Albuquerque MC, Silva P, Bastos OMP, Uchôa CMA. Diagnóstico coproparasitológico: estudo comparativo entre os métodos de Faust e cols.; Lutz, Baermann e Moraes e Coprotest®. Rev bras anal clin. 2002;36:145-6.
10. Tarafder MR, Carabin H, Joseph L, Balalong E, Olveda R, McGarvey ST. Estimating the sensitivity and specificity of Kato-Katz stool examination technique for detection of hookworms, Ascaris lumbricoides and Trichuris trichiura infections in humans in the absence of a 'gold standard'. Int. j. parasitol. 2010;40(4): 399-404.
11. Alyani D, Murhandarwati EH, Sumarni S, Ernaningsih E. Comparing the Sensitivity and Specificity of Zinc Sulphate Flotation Method to Formol Ether Sedimentation Method in Identifying Intestinal Protozoa's Cysts. Trop Med J. 2015;3(2):176-83.
12. Baermann G. Eine einfache methode zur auffindung von ankylostomum (Nematoden) larven in erdproben. Geneeskunding Tijdschrift voor Nederlandsch-Indië. 1917; 7:131-7.
13. Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. The Bulletin of the U.S. Army Medical Department. 1948, 8:4.
14. Young KH, Bullock SL, Melvin DM, Spruill CL. Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether the formalin-ether sedimentation technique. J Clin Microbiol. 1979;10(6):852-3.
15. Faust EC, D'Antoni JS, Odon V, Miller MJ, Perez C, Sawitz W, et al. A critical study of clinical laboratory technics of the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces.I - Preliminary communication. Am J Trop Med. 1938;18:169-83.
16. Lutz A. O Schistosomum mansoni and Schistosomatosis observed in Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1919;11(1):121-55Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid= S0074-02761919000100006&lng=en

17. Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. Rev Inst Med Trop. São Paulo, v. 14, p. 397-400, 1972.
18. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agrément for categorical data. Biometrics. 1977;33:159-74.
19. Fapan. Faculdade de Paraíso do Norte. Apostila de Contabilidade de Custos I. Disponível em: <www.fapanpr.edu.br/site/docente/arquivos/Apostila%20Custos%20%20Auxiliar.pdf>. Acesso em: 02/12/2015.
20. Cavagnolli NI, Camello JT, Tesser S, Poeta J, Rodrigues AD. Prevalência de enteroparasitoses e análise socioeconômica de escolares em Flores da Cunha- RS. Rev patol. trop. 2015;44(3):312-22.
21. Ngrenngarmlert W, Lamon MC, Pasaralertsakul S, Yaicharoen R, Wongjindanon N, Sripochang S, Kiatfuengfoo R. Intestinal parasitic infections among school children in Thailand. Trop. Biomed. 2007; 24(2):83-8.
22. Castro AZ, Viana JD, Penedo AA, Donatele DM. Levantamento das parasitoses intestinais em escolares da rede pública na cidade de Cachoeiro de Itapemirim-ES. Newslab. 2004;64(13):140-4.
23. Ferreira MU, Ferreira CDS, Monteiro CA. Tendência secular das parasitoses intestinais na infância na cidade de São Paulo (1984-1996). Rev. Saúde Pública. 2000;34(6 Supl):73-82.
24. Miotto JE, Caro DSA, Barros MF, Rego BEF, Santos FC, Macagnan R, Santos IS. Diagnóstico laboratorial de enteroparasitoses e anemia e sua possível associação com eosinofilia em crianças em idade escolar em Ubiratã-PR. Biosaúde. 2016;16(2):52-62.
25. Carvalho GL, Moreira LE, Pena JL, Marinho CC, Bahia MT, Machado-Coelho GL. A comparative study of the TF-Test®, Kato-Katz, Hoffman-Pons-Janer, Willis and Baermann-Moraes coprologic methods for the detection of human parasitosis. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012;107(1):80-4.
26. Alarcón R, Amato-Neto V, Gakiya E, Bezerra R. Observações sobre Blastocystis hominis e Cyclospora cayetanensis em exames parasitológicos efetuados rotineiramente. Rev Soc Bras Med Trop, 2007;40(2): 253-5.
27. Núñez-Fernández FA, Sanjurjo Gonzalez E, Finlay Villalvilla CM. Comparison of several coproparasitological techniques for the diagnosis of soil-transmitted intestinal helminthiasis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1991;33(5):403-6. [Article in Spanish]
28. Brandelli CL, Cargnin ST, Willers DM, Oliveira KR, Tasca T.. Comparison between spontaneous sedimentation method and Paratest® for the diagnosis of intestinal parasitic infections. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2011;105(10):604-6.
29. Krauth SJ, Coulibaly JT, Knopp S, Traoré M, N'Goran EK, Utzinger J. An in-depth analysis of a piece of shit: distribution of Schistosoma mansoni and hookworm eggs in human stool. PLoS Negl Trop Dis, 2012;6(12):e1969.
30. Belo VS, Oliveira RB, Fernandes PC, Nascimento BWL, Vitorino F, Fernandes CLF, Silva ES. Fatores associados à ocorrência de parasitoses intestinais em uma população de crianças e adolescentes. Rev Paul Pediatr. 2012;30(2):195-201.
31. Melo EV, Costa WD, Conceição MJ, Coura JR. A comparative cross-sectional study on the prevalence and morbidity of schistosomiasis in a community in northeastern Brazil (1979-2010). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2014;109(3):340-4.

Correspondência
Claudia Maria Antunes Uchôa
Rua Prof. Hernani Pires de Melo, n° 101,
24210 -130, - Niterói-RJ, Brasil
tel: (21) 2629-2426.
claudiauchoa@vm.uff.br
eduardapeixoto.azevedo@gmail.com

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS
Brazilian Journal of Clinical Analyses
ISSN 2448-3877 – Versão *Online*
ISSN 0370-369-x – Versão Impressa

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* [RBAC], criada em 1969, é o órgão oficial de divulgação científica da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas [SBAC]. A RBAC tem circulação trimestral e seus artigos estão indexados no LILACS [Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde].

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* [RBAC] é publicada em português e inglês e é dedicada à divulgação de pesquisa científica de qualidade metodológica reconhecida, relacionada às várias áreas das análises clínicas e da patologia clínica veterinária.

Ao submeter o original do manuscrito, os autores assumem a responsabilidade do manuscrito não ter sido previamente publicado e nem estar sendo simultaneamente analisado por outro periódico, quer na íntegra ou parcialmente, excetuando-se resumos ou relatórios preliminares publicados em anais de reuniões científicas. Todos os autores deverão assinar e encaminhar a Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais, assumindo formalmente a autoria pelo manuscrito e oficializando a cessão do copyright. A declaração assinada deverá ser remetida sob a forma de documento em ".pdf". As opiniões, asserções e conclusões emitidas nos manuscritos, bem como a veracidade das informações e citações bibliográficas são de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es).

Os autores deverão declarar no manuscrito qualquer potencial conflito de interesse, incluindo aqueles de natureza política e financeira. O documento formal de conflito de interesse é a Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais mencionada acima.

Os autores deverão declarar todas as fontes de financiamento ou suporte público ou privado recebidas para a realização do estudo. No caso de estudos realizados sem recursos financeiros, da mesma forma, os autores deverão declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

Quando a investigação envolver seres humanos, a publicação do manuscrito estará condicionada ao cumprimento irrestrito das diretrizes normativas do Conselho Nacional de Saúde [CNS] e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa [CONEP]. A declaração de que os procedimentos seguidos nos experimentos estão em consonância com os princípios éticos aceitos pelas normativas nacional (Resolução CNS 466/2012) e internacional (Declaração de Helsinki/ World Medical Association) deverá ser explicitamente firmada no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética em Pesquisa [CEP] da instituição responsável pela investigação deverá ser também aí declarado. Uma cópia em ".pdf" da autorização do CEP deverá ser encaminhada juntamente com o manuscrito. Quando se tratar de pesquisa com animais, as normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal [CONCEA] e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal [COBEA], bem como do Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [Institute for Laboratory Animal Research/ National Academy of Science - USA] deverão ser incondicionalmente respeitadas e seu cumprimento também deverá ser declarado, explicitamente, no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais [CEUA] da instituição responsável pela pesquisa deverá ser igualmente declarado e uma cópia em ".pdf" da autorização do CEUA deverá ser, da mesma forma, encaminhada com o manuscrito. Quando os autores forem filiados a instituições não brasileiras, estes deverão declarar no manuscrito o cumprimento de diretrizes normativas e remeter documentação local de mesmo efeito legal.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* apoia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial de Saúde [OMS], do International Committee of Medical Journal Editor [ICMJE] e do Workshop ICTRP. Desse modo, somente serão aceitos para publicação os artigos de ensaios clínico-laboratoriais que tenham recebido um número de identificação em um dos registros de ensaios clínicos validados pelos critérios estabelecidos pela OMS e ICMJE. Entidades que registram ensaios clínicos segundo os critérios do ICMJE são: Australian New Zealand Clinical Trials Registry [ANZCTR], International Standard Randomised Controlled Trail Number [SRCTN], Nederlands Trial Register [NTR], UMIN Clinical Trials Registry [UMIN-CTR], WHO International Clinical Trials Registry Platform [ICTRP]. No entanto, o número de identificação obtido no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos - ReBEC (http://www. ensaiosclinicos.gov.br) do Ministério da Saúde [DECIT/MS], Organização Panamericana de Saúde [OPAS] e Fundação Oswaldo Cruz [Fiocruz] é igualmente aceito pela RBAC. O número de identificação/ identificador primário deverá ser declarado ao final da seção Material e Métodos.

Apenas serão recebidos manuscritos que estejam rigorosamente de acordo com as normas aqui especificadas. Os manuscritos serão avaliados por pareceristas/ revisores indicados pelo Conselho Editorial e/ou, eventualmente, pelos autores. Quando indicados pelos autores, deverá ser informado nome completo dos pareceristas/ revisores, e-mail e instituição de origem. O Conselho Editorial se reserva o direito, no entanto, de acatar ou não a sugestão de pareceristas/ revisores por parte dos autores. A aceitação dos manuscritos será feita em função da originalidade, importância e contribuição científica para o desenvolvimento da área. Manuscritos aprovados poderão sofrer alterações de ordem editorial, desde que não alterem o mérito do trabalho. Manuscritos recusados pelos pareceristas/ revisores serão informados imediatamente aos autores.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* está estruturada em 15 seções ou áreas temáticas, cuja indicação deverá ser feita pelos autores, no momento da submissão do manuscrito, sendo elas:

1. Bacteriologia Clínica
2. Virologia Clínica
3. Micologia Clínica
4. Parasitologia Clínica
5. Imunologia Clínica
6. Bioquímica Clínica e Biologia Molecular
7. Hematologia Clínica e Imunohematologia
8. Citologia Clínica e Anatomia Patológica
9. Boas Práticas de Laboratório Clínico e Biossegurança
10. Gestão e Controle da Qualidade no Laboratório Clínico
11. Bioética e Ética em Pesquisa
12. História da Saúde e Ensino das Análises Clínicas
13. Microbiologia de Alimentos
14. Patologia Clínica Veterinária/ Medicina Veterinária Laboratorial
15. Toxicologia Clínica e Biologia Forense

Os manuscritos poderão ser submetidos dentro das categoriais de comunicação científica designadas abaixo:

ARTIGOS ORIGINAIS: trabalhos nos quais são informados os resultados obtidos em pesquisas de natureza empírica ou experimental original, cujos resultados possam ser replicados e/ou generalizados. Deverão atender aos princípios de objetividade e clareza da questão norteadora. Os artigos originais deverão ser estruturados de maneira a conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 250 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

ARTIGOS DE REVISÃO: trabalhos com avaliações críticas e sistematizadas da literatura sobre um determinado assunto que deverá dar ao leitor uma cobertura geral acerca do tema apresentado. Os artigos de revisão deverão conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract não estruturado (até 200 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), texto ordenado (títulos e subtítulos), opiniões e conclusões (quando couber) e referências bibliográficas (até 30 referências). O trabalho não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências. Estes trabalhos são escritos a convite do editor.

ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO: trabalhos descritivos e interpretativos com base em literatura recente sobre o estado atual de determinado assunto. Os critérios técnicos que deverão ser utilizados são os mesmos definidos para os Artigos de Revisão. Estes trabalhos são também escritos a convite do editor.

COMUNICAÇÃO BREVE: ttrabalhos originais cuja relevância para o conhecimento de determinado tema justifica a apresentação científica de dados iniciais de pequenas séries ou dados parciais de ensaios clínico-laboratoriais. Sua estruturação deverá conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 200 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 25 referências). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

RELATO DE CASO: trabalhos com descrição detalhada e análise crítica de casos clínico-laboratoriais atípicos que, pela sua raridade na literatura ou apresentação não usual, merecem uma divulgação e discussão científica. Os relatos de casos deverão conter: título (até 200 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract com contexto e relato contendo descrição, discussão e conclusão (até 200 palavras), introdução, apresentação e relato do caso, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 25 referências). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

NOTA TÉCNICA: Descrição/ validação de instrumentos, métodos e técnicas. Sua estruturação deverá conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 200 palavras), introdução, metodologia e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto ordenado (títulos e subtítulos) não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

RESENHA: Revisão crítica de obra recém publicada (até 3 anos), orientando o leitor quanto a suas características e usos potenciais. É fundamental que não se trate apenas de um sumário ou revisão dos capítulos da obra, mas efetivamente uma crítica. Este tipo de contribuição está limitado a 6 páginas, incluindo todos os seus elementos. Não há resumo/*abstract*.

IMAGENS EM ANÁLISES CLÍNICAS: máximo de duas figuras com qualidade de 300 dpi gravadas em ".jpg" ou ".tif" e até 3 autores e três referências que não deverão ser citadas no texto. As imagens deverão conter título descritivo. O texto deverá conter um máximo de 300 palavras com ênfase na caracterização das figuras. Agradecimentos não deverão ser declarados.

CARTA AO EDITOR: correspondências de conteúdo científico com comentários, discussões ou críticas a artigos recentes (dois números anteriores) publicados na *Revista Brasileira de Análises Clínicas* ou ainda com relatos de pesquisas originais, achados técnico-científicos significativos, opiniões qualificadas sobre um tema específico das análises clínicas, bem como menções ou obituários de personalidades da área da saúde e análises clínicas onde deverá ser destacado seu perfil científico e sua contribuição acadêmica e profissional. Os autores de artigos originais citados por terceiros serão convidados a responder aos comentários e críticas a eles dirigidos. Nesta categoria, o texto tem formato livre, mas não deverá exceder 500 palavras e 5 referências.

EDITORIAIS: escritos a convite do editor, sob tema específico, mas considerando a área de enfoque da *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. Deverão conter um máximo de 2000 palavras e até 10 referências bibliográficas. Não serão aceitos editoriais enviados espontaneamente.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* avalia manuscritos para publicação em português e inglês. Manuscritos em português devem estar em consonância com a norma culta. A submissão de manuscritos em inglês é **enfaticamente** estimulada pelo Conselho Editorial. Quando neste idioma, recomenda-se a revisão por profissional que tenha o inglês como primeira língua e de preferência, familiarizado com a área do trabalho. O Conselho Editorial, caso considere necessário, poderá enviar os manuscritos submetidos em inglês para um revisor do idioma, repassando os custos aos autores, após a autorização expressa dos mesmos. em inglês para um revisor do idioma, repassando os custos aos autores, após a autorização expressa dos mesmos.

A estrutura geral do manuscrito deverá acompanhar a normalização técnica conforme o quadro abaixo.

ESTRUTURA DOS ARTIGOS	
Português	**Inglês**
Titulo Completo *Incluir versão em Inglês*	**Complete Title** *Incluir versão em Português*
Título Corrido *Incluir versão em Inglês*	**Running Title** *Incluir versão em Português*
Autores	**Authors**
Resumo *Incluir versão em Inglês*	**Abstract** *Incluir versão em Português*
Palavras-Chave *Incluir versão em Inglês*	**Keywords** *Incluir versão em Português*
Introdução	**Introduction**
Material e Métodos	**Material and Methods**
Ética	**Ethics**
Resultados	**Results**
Discussão	**Discussion**
Conclusão	**Conclusion**
Conflito de interesse	**Conflicts of Interests**
Suporte Financeiro	**Funding Sources**
Agradecimentos	**Ackowledgements**
Referências	**References**

TÍTULO COMPLETO: Deverá ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho. Recomenda-se iniciar pelo termo que representa o aspecto mais relevante da pesquisa com os demais termos em ordem decrescente de importância. O título não deverá conter nenhuma abreviatura e os nomes das espécies ou palavras em latim deverão vir em letras minúsculas (excetuando-se, quando for o caso, a primeira letra da palavra) e em itálico.

TÍTULO CORRIDO: Deverá ser resumido e conter a ideia central do trabalho.

AUTORES: Os nomes completos dos autores por extenso, graus acadêmicos e filiação institucional deverão ser mencionados. O nome completo, endereço profissional, telefone e e-mail do autor responsável pelo manuscrito deverá ser especificado.

RESUMO: Deverá ser redigido de forma impessoal, bem como ser conciso e claro, pondo em relevo, de forma precisa, os fatos de maior importância encontrados e as conclusões obtidas. Deverá ser elaborado ainda de forma estruturada, contendo introdução, objetivos, material e métodos, resultados, discussão e conclusões. Referências não deverão ser citadas e o emprego de acrônimos e abreviaturas deverá ser limitado.

PALAVRAS-CHAVE: Deverão ser indicados termos que permitam a identificação do assunto tratado no trabalho. As palavras-chaves deverão ser extraídas do vocabulário DeCS [Descritores em Ciências da Saúde], elaborado pela Bireme, e/ou MeSH [*Medical Subject Headings*], elaborado pelo NLM [*National Library of Medicine*]. Os vocabulários DeCS (http://decs.bvs.br/) e MeSH (http://www.nlm.nih.gov/mesh/) deverão ser consultados, pois nenhuma outra palavra-chave será aceita.

INTRODUÇÃO: Deverá apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto. Nesta seção, as citações deverão ser restringidas ao mínimo necessário. A introdução não deverá incluir ainda dados ou conclusões do trabalho em referência. O último parágrafo deverá expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do resumo.

MATERIAL E MÉTODOS: Deverão ser apresentados de forma breve, porém suficiente para possibilitar a reprodução e replicação do trabalho. Nesta seção, deverão ser informados o desenho experimental e o material envolvido, bem como deverá ser feita a descrição dos métodos utilizados. Métodos já publicados, a menos que tenham sido extensamente modificados, deverão ser referidos apenas por citação. Fontes de reagentes e equipamentos (empresa, cidade, estado e país) deverão ser mencionados. Nomes que são marcas registradas deverão ser também, claramente, indicados. Para melhor leitura e compreensão, subtítulos poderão ser estabelecidos.

ÉTICA: Nesta seção, deverá ser declarado, textualmente, o cumprimento da legislação, quando estudos com seres humanos ou animais forem procedidos. Deverá ser mencionado também a aprovação do Comitê de Ética correspondente da instituição a qual pertencem os autores responsáveis pelos experimentos, inclusive, informando, claramente, o número do parecer. O Corpo Editorial da Revista poderá recusar artigos que não cumpram rigorosamente os preceitos éticos da pesquisa.

RESULTADOS: Deverão ser apresentados em sequência lógica e com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal e acompanhados de gráficos, tabelas, quadros e ilustrações. Os dados constantes nesses elementos gráficos, no entanto, não deverão ser repetidos integralmente no texto, evitando-se, desse modo, superposições. Apenas as informações mais relevantes deverão ser transcritas e enfatizadas.

DISCUSSÃO: Deverá ficar restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, procurando, sempre que possível, uma correlação com a literatura da área. Não deverá ser incluída uma revisão geral sobre o assunto. A repetição de resultados ou informações já apresentadas em outras seções, bem como especulações que não encontram justificativa para os dados obtidos deverão ser evitadas.

CONCLUSÕES: Deverão ser concisas, fundamentadas nos resultados e na discussão, contendo deduções lógicas e correspondentes aos objetivos propostos. Em alguns casos, poderá ser incluída no item discussão, não havendo necessidade de repeti-la em item a parte.

CONFLITOS DE INTERESSE: Deverá ser informada, de maneira explícita, por todos os autores, a existência ou não de conflitos de interesse que podem derivar do trabalho. Não havendo conflitos de interesse, deverá ser escrito "Não há conflitos de interesse".

SUPORTE FINANCEIRO: Deverão ser informados todos os tipos de apoio, fomento ou financiamento obtidos para a realização do projeto de pesquisa.

AGRADECIMENTOS: Deverão ser curtos, concisos e restritos àquelas pessoas e/ou instituições que colaboraram com auxílio técnico e/ou recursos. No caso de órgãos de fomento, não deverão ser utilizadas siglas.

TABELAS: O título deverá ser breve e descritivo, apresentando de maneira precisa seu conteúdo e o contexto (ou amostra) a partir do qual a informação foi obtida. Deverá estar ainda inserido na parte superior da ilustração e ser precedido pela palavra "Tabela", seguida por um número identificador em algarismos arábicos. A numeração das tabelas deverá ser feita consecutivamente, a partir da ordem de citação no texto. Serão permitidas notas explicativas

de rodapé (legendas), indicadas por asteriscos e dispostas ao final da tabela. Para notas de rodapé, deverá ser utilizado algarismos romanos. As tabelas deverão ser elaboradas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e em sua parte inferior e sem linhas verticais. Não deverão ser utilizadas também linhas horizontais internas. Os dados das tabelas deverão ser digitados em tamanho 10 e com minúsculas, excetuando-se as letras do início das palavras e as siglas. Nas tabelas, deverá ser empregado espaçamento entrelinhas 1,5, sem qualquer forma de tabulação ou recuos de parágrafos. O comprimento da tabela não deverá exceder 55 linhas, incluindo título, e apresentar largura máxima de 17cm. Os dados apresentados em tabelas não deverão ser repetidos em gráficos. As tabelas deverão ser compostas em programa Word ou MS-Excell e enviadas em arquivo separado. Deverá ser evitado um número excessivo de tabelas.

FIGURAS: Todas as ilustrações que não se enquadram no conceito de tabela são consideradas figuras, portanto: quadros, gráficos, desenhos, imagens e fotografias. Deverão ter um título breve e descritivo, disposto em sua parte inferior. Deverão ainda ser numeradas com algarismos arábicos, consecutivamente, na ordem de aparecimento no texto e citadas como figuras. As figuras deverão ter boa resolução (mínimo de 300 dpi), ser gravadas em formato ".jpg" ou "tif" e medir no mínimo 12 x 17cm e no máximo 20 x 25cm. As escalas deverão ser indicadas por uma linha ou barra na figura e referenciadas, se necessário, na legenda. Os gráficos deverão ser preparados nos programas Microsoft Word ou MS-Excell em formato ".doc", ".docx" ou ".xls" e não como imagem. Imagens produzidas em software estatístico devem ser convertidas para formato MS-Excell, caso não seja possível converter para formato ".tif". Ilustrações coloridas somente poderão ser aceitas se os autores assumirem os custos. Os dados apresentados nas figuras não deverão repetir aqueles já descritos nas tabelas. Os locais aproximados onde as ilustrações serão colocadas deverão ser determinados no texto. As figuras deverão ser enviadas em arquivos separados. Não deverão ser enviados um número excessivo de figuras.

REFERÊNCIAS: As referências, em todas as categorias de trabalho científico, deverão ser normalizadas de acordo com o estilo Vancouver publicado em *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* [Normas para Uniformização de Manuscritos Submetidos às Revistas Biomédica] pelo *International Committee of Medical Journal Editors [ICMJE]* (http://www.icmje.org) e que pode ser consultado em www.scielo.br/pdf/rcbc/v35n6/v35n6a14.pdf (Versão em Português) ou em www.icmje.org/urm_full.pdf (Versão em Inglês). A abreviação dos títulos dos periódicos deverá seguir o recomendado em *List of Journals Indexed in Index Medicus* [*National Library For Medicine*] (http://www.nlm.gov/tsd/serials/lji.html) ou no Portal de Revistas Científicas em Ciências da Saúde [Biblioteca Virtual em Saúde] (http://portal.revistas.bvs.br/index.php?lang=pt). Sugere-se incluir aquelas referências estritamente pertinentes à problemática abordada e evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. **A lista das referências deverá ser numerada de acordo com a ordem em que os autores foram citados no texto e não em ordem alfabética.** Deverão ser listados somente os trabalhos consultados e citados no texto. Citações de "resumo", "dados não publicados", "comunicações pessoais" ou "no prelo" poderão ser adequadamente mencionados no texto, mas não serão aceitos como referências bibliográficas. A exatidão das referências será de responsabilidade exclusiva dos autores.

As citações e menções no texto de informações colhidas em outras fontes, bem como as referências bibliográficas deverão seguir o exposto abaixo:

TEXTO: Deverá ser utilizado em todo o manuscrito o Sistema de Chamada Numérico. Neste sistema, as citações dos documentos deverão ter numeração única e consecutiva, indicada pelo número da referência em expoente e entre parênteses. Os autores serão numerados por ordem de sua citação no texto, independentemente da ordem alfabética. As referências citadas em legendas de tabelas e figuras deverão manter a sequência com as referências citadas no texto. O mesmo trabalho mencionado mais de uma vez deverá manter, sempre que aparecer, o primeiro número a ele atribuído.

Observações Gerais:

• Quando houver dois autores, deverá ser utilizada a partícula “e” entre os sobrenomes;

• Quando houver 3 ou mais autores, deverá ser indicado apenas o primeiro sobrenome seguido da expressão latina "et al.";

• Quando uma entidade, corporação, editores ou projetos editoriais assumirem a responsabilidade integral pelo documento deverão ser indicados/ tratados como autores;

• Nomes contendo mais de um sobrenome deverá ser indicado o último sobrenome, sem partículas de ligação como “de” ou “da”;

• Sobrenomes duplos, com hífens ou apóstrofos ou que formem uma expressão deverão ser indicados em seu conjunto;

• Termos relacionados a graus de parentesco (filho, júnior, neto, sobrinho), deverão ser indicados após os sobrenomes e por extenso.

Alguns exemplos de citações:

• **Um/dois autores:** No mesmo ano, Nishimura e Miyaji[26] mudaram a denominação do fungo para *Hortaea werneckii*, em homenagem a Parreiras Horta.

• **Mais de dois autores:** Giannopoulos et al.[32] também observaram maior prevalência de NIC 1 em mulheres na faixa etária de 20 a 30 anos enquanto NIC 3 foi mais frequente em mulheres com mais de 50 anos.

• **Autores corporativos:** De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes,[17] os sinais e sintomas de hiperglicemia incluem: polidipsia, poliúria, perda de peso, fome exagerada, visão embaçada, infecções repetidas na pele e mucosas, dificuldade na cicatrização de ferimentos, fadiga e dores nas pernas (má circulação).

• **Editores/ Projetos editoriais:** Conforme o Dicionário de Especialidades Farmacêuticas,[5] a meia-vida inicial da anfotericina B é de 24-48 horas e sua meia-vida terminal é de 15 dias.

• **Sem indicação de nome de autor:** O diagnóstico de hipertireoidismo, por sua vez, é dado a partir de resultados baixos de T4 livre e elevados de TSH.[14]

AUTORES: Os autores deverão ser referenciados por seu sobrenome, tendo apenas a primeira letra em maiúscula, seguido do(s) nome(s) abreviado(s) e sem vírgulas e pontos. **Todos os autores** deverão ser referenciados e separados por vírgulas (o mesmo é válido para livros), apesar do estilo Vancouver recomendar que apenas sejam indicados os 6 primeiros autores, quando o número de autores for maior. Deverão ser dados espaços após as vírgulas.

Observações Gerais:

• Quando o documento consultado possuir apenas editores ou compiladores, esta condição deverá ser indicada logo após os nomes dos autores;

• Quando a autoria do documento for de uma organização, a referência deverá ser iniciada diretamente pelo nome da entidade. Se houver mais de uma entidade com subordinação entre elas, estas deverão entrar em ordem decrescente de hierarquia e serem separadas por pontos. Se as entidades não apresentarem subordinação, estas deverão ser separadas por ponto e vírgula;

• Quando o documento consultado não possuir autoria, a referência deverá ser iniciada por seu título;

• Quando o documento consultado for tese, dissertação ou monografia deverá ser empregada a seguinte correspondência entre tipo e grau: tese: doutorado, tese: livre-docência, tese: PhD, dissertação: mestrado, monografia: especialização, monografia: graduação;

• Quando o documento consultado for de natureza jurídica (Constituição Federal ou Estadual, Emenda Constitucional, Medida Provisória, Leis, Decretos, Portarias, Resoluções e Códigos), deverão ser seguidos os padrões de autoria/ emissão recomendados pela NBR 6023 da Associação Brasileira de Normas e Técnicas (ABNT, 2002), com a apresentação gráfica adaptada ao estilo de Vancouver.

• Toda informação adicionada à referência que for encontrada em alguma fonte que não o documento consultado ou informação complementar à referência como suporte do documento ou tradução de alguma expressão deve ser adicionada entre [colchetes].

TÍTULO DE ARTIGOS/ DOCUMENTOS: Os títulos dos artigos/ documentos consultados deverão ser referenciados em letras minúsculas, no entanto, a primeira palavra deverá ser iniciada por letra maiúscula. O texto do título não deverá vir nem em negrito e nem em itálico e deverá ser finalizado por ponto.

TÍTULO DE PERIÓDICOS/ REVISTAS E ANO: Os títulos de periódicos/ revistas consultados deverão ser referenciados abreviados e finalizados com ponto. Importante considerar que todos os pontos da abreviatura do título deverão ser eliminados, com exceção do último, empregado para separar o título do ano. Um espaço deverá ser dado entre o ponto colocado ao final do título e o ano. A separação entre ano e volume deverá ser feita com a utilização de ponto e vírgula.

MÊS, VOLUME, NÚMERO E PÁGINAS: O estilo Vancouver recomenda que os meses sejam referenciados em inglês e de forma abreviada, independente da língua do texto: *Jan, Feb, Mar, Apr, May, Jun, Jul, Aug, Sep, Oct, Nov, Dec.* No entanto, a RBAC aceita a abreviação em português daqueles manuscritos nesse idioma. Quando o periódico apresentar paginação contínua ao longo de um volume, o mês e o número poderão ser omitidos. Ano, volume, número e páginas deverão ser escritos sem qualquer espaço entre eles. Quando as páginas do artigo consultado exibirem números coincidentes, deverão ser eliminados os números iguais (445-449, utilizar: 445-9).

EDIÇÃO E LOCAL DE PUBLICAÇÃO: As edições de documentos consultados deverão ser referenciadas após o título, em algarismos arábicos, seguidas de ponto e da palavra "edição" no idioma que figura na publicação original e de forma abreviada. Quando for a primeira edição, essa não deverá ser indicada. Quando houver a definição do local de publicação, este deverá ser indicado em seguida à edição.

PARÁGRAFOS: Quando a referência ocupar mais de uma linha, esta deverá ser reiniciada na primeira posição na linha inferior, sem recuos.

Alguns exemplos de referências:

Periódicos:

• **Um Autor:** Marques SA. Paracoccidioidomycosis. Clin Dermatol. 2012 Nov;30(6):610-5.

• **Mais de um autor:** Lee MY, Telisinghe PU, Ramasamy R. Cervical cancer in Brunei Darussalam. Singapore Med J. 2012 Sep;53(9):604-7.

• **Até seis autores:** Okita Y, Narita Y, Miyakita Y, Ohno M, Nagai S, Shibui

S. Management of cytomegalovirus infection in a patient with malignant glioma treated with temozolomide and steroids. Intern Med. 2012;51(20):2967-71.

• **Mais de seis autores:** Espinel-Ingroff A, Aller AI, Canton E, Castañón-Olivares LR, Chowdhary A, Cordoba S, et al. Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii Species Complex: an International Study of Wild-Type Susceptibility Endpoint Distributions and Epidemiological Cutoff Values for Fluconazole, Itraconazole, Posaconazole, and Voriconazole. Antimicrob Agents Chemother. 2012 Nov;56(11):5898-906.

• **Autores pessoais e corporativos:** Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al; Members of LAST Project Work Groups. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. J Low Genit Tract Dis. 2012;16(3):205-42.

• **Volume com suplemento:** Maljaars J, Peters HP, Masclee AM. The gastrointestinal tract: neuroendocrine regulation of satiety and food intake. Aliment Pharmacol Ther. 2007 Dec;26 Suppl 2:241-50.

• **Número com suplemento:** Komrokji RS, Verstovsek S, Padron E, List AF. Advances in the management of myelofibrosis. Cancer Control. 2012; 19(4 Suppl):4-15.

• **Editorial com indicação de autoria:** Tamaoki J, Saito H. Diagnosis, evaluation and monitoring of asthma [editorial]. Allergol Int. 2012;61(3):351-2.

• **Editorial sem indicação de título:** Bartels PD. Editorial. Ugeskr Laeger. 2012;174(42):2518.

• **Artigo/ Editorial sem indicação de autoria:** Improved and Emerging Gel-free Separation and Detection Methods for Proteomics [editorial]. Proteomics. 2012;12(19-20):2902-3.

• **Carta ao editor:** Dettenkofer M, Conrad A. Hand hygiene prevents MRSA transmission [letter]. Dtsch Arztebl Int. 2010;107(8):139.

• **Artigo com DOI:** Newman TB, Pletcher MJ, Hulley SB. Overly aggressive new guidelines for lipid screening in children: evidence of a broken process. Pediatrics. 2012 Aug;130(2):349-52. doi: 10.1542/peds.2012-0481.

• **Autor corporativo:** Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of fungal infection associated with injection of methylprednisolone acetate solution from a single compounding pharmacy - United States, 2012. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2012 Oct 19;61:839-42.

Livros:

• **Um autor/ mais de um autor**: Stockham SL, Scott MA. Fundamentos da Patologia Clínica Veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2011.

• **Autor de obra e de capítulo:** Rey L. Bases da parasitologia médica. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

• **Capítulo:** Rodrigues RMMS, Nogueira MD. Fiscalização de alimentos por análise microscópica. In: Almeida-Muradian LB, Camargo Penteado MV. Vigilância Sanitária: tópicos sobre legislação e análise de alimentos. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2007. p. 72-80.

• **Reponsabilidade intelectual destacada:** Diniz D, Sugai A. Guilhem D. Squinca F, organizadores. Ética em pesquisa: temas globais. Brasília: Editora UNB; 2008.

Teses, Dissertações e Monografias:

• **Autor e indicação de grau:** Maranhão FCA. Análise da expressão gênica no dermatófito Trichophyton rubrum mimetizando a infecção in vitro: pH e diferentes fontes de carbono regulando genes. São Paulo. Tese [Doutorado em Genética] – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP; 2008.

Eventos Científicos:

• **Anais com indicação de título:** Anais do 5º Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007.

• **Anais com indicação de autoria, trabalho e título:** Neufeld PM, Melhem M, Szescs MW, Santos LH, Dornelas-Ribeiro M, Maia S, et al. Espécies de Candida isoladas de pacientes leucêmicos. In: Anais do 5. Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007. p. 314.

Órgãos/ Instituições:

• **Um autor corporativo:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes. Brasília: Ministério da Saúde; 2002.

• **Mais de um autor corporativo:** Fundação Oswaldo Cruz; Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro. Relatório de atividades: 2006. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2007.

Referências Legislativas:

• **Leis:** Brasil. Lei no. 8.080 de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. Diário Oficial da União 20 set 1990; seção 1.

• **Decretos:** Brasil. Decreto no. 7.580, de 28 de junho de 2011. Regulamenta a Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990, para dispor sobre a organização do Sistema Único de Saúde - SUS, o planejamento da saúde, a assistência à saúde e a articulação interfederativa, e dá outras providências. Diário Oficial da União 29 jun 2011; seção 1.

• **Portarias**: Ministério da Saúde (Brasil). Portaria no. 2.616, de 12 de maio de 1998. Expede diretrizes e normas para a prevenção e o controle da infecção hospitalar. Diário Oficial da União13 mai 1998; seção 1.

• **Resoluções:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para Funcionamento de Laboratórios Clínicos. Diário Oficial da União 14 out 2005; seção 1.

Meios Eletrônicos:

• **Periódicos:** Mondelli AL, Niéro-Melo L, Bagagli E, Camargo CH, Bruder-Nascimento A, Sugizaki MF, Carneiro MV, Villas Boas PJF. *Candida* spp.: manual identification (reference method) and automated identification (Vitek system platform). J Venom Anim Toxins incl Trop Dis [periódicos na internet]. 2012 set [acesso em 29 de out 2012]; 18(3). Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/jvatitd/v18n3/a11v18n3.pdf.

• **Referências legislativas:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 306, de 13 de dezembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de saúde [resolução RDC na internet]. Diário Oficial da União 10 dez 2004 [acesso em 28 out 2012]. Disponível em: http://www.unesp.br/pgr/pdf/rdc30604anvisa.pdf.

• **Eventos Científicos:**. Albuquerque P, Kyaw CM, Saldanha RR, Brigido MM, Felipe MSS, Silva-Pereira I. Identification and Characterization of Phase-Specific cDNAs Encoding for Two Hydrophobins in the Fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. In: 4o. Congreso Virtual de Micología de Hongos Patógenos en América Latina [evento na internet]. 2003 27jun-14jul; Caracas, Venezuela [acesso em 10 jul 2003]. Disponível em: http://congresomicologia.ucv.ve.

A tramitação de manuscritos será feita exclusivamente online pelo **Sistema de Gestão de Publicações (SGP)**, no endereço: www.sgponline.com.br/rbac/sgp. Outras formas de submissão, não serão aceitas.

Observações Gerais:

• A comunicação entre os diferentes participantes do processo editorial de avaliação e publicação (autores, revisores e editor) será feita apenas de forma eletrônica pelo SGP, sendo o autor responsável pelo manuscrito informado automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de *status*;

• Apenas o autor responsável pelo manuscrito deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema e posterior acesso por meio de *login* e senha;

• A RBAC comunicará individualmente, por e-mail, a cada autor a sua participação no manuscrito. Caso um dos autores não concorde com sua participação, o manuscrito será recusado;

• O SGP atribuirá a cada manuscrito um número de registro e o autor principal será notificado de que o manuscrito está completo e apropriado para iniciar o processo de revisão;

• Pedidos de *fast-track* poderão ser considerados desde que justificados e solicitados por orientadores e/ou coordenadores de programas de pós-graduação ou responsáveis por departamentos, laboratórios, setores ou serviços de instituições públicas ou privadas ou ainda se rigorosamente fundamentados por seus autores. Os pedidos de *fast-track* deverão vir endereçados ao editor da RBAC em documento em papel timbrado da instituição e carimbado por seus superiores hierárquicos.

MODELO DE DECLARAÇÃO

Declaração de Responsabilidade, Conflitos de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais

Os autores abaixo assinados vimos submeter o artigo intitulado "Título do Artigo" à apreciação do Corpo Editorial da *Revista Brasileira de Análises Clínicas* - RBAC para sua publicação. Nesta oportunidade, declaramos estar de acordo com que os direitos autorais referentes ao artigo em tela tornem-se propriedade exclusiva da RBAC desde sua submissão, sendo vedada a reprodução total ou parcial, em qualquer meio de divulgação, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e concedida pela editoria da RBAC. Declaramos também que o artigo não infringe os direitos autorais ou qualquer outro direito de propriedade de terceiros e que seu conteúdo é de inteira responsabilidade dos autores. Declaramos ainda que este é um trabalho original e que não foi publicado anteriormente e nem está sendo considerado para publicação em outro periódico, tanto no formato impresso quanto no eletrônico. Os autores confirmam estar cientes e concordantes com a publicação do artigo na RBAC e afirmam não haver qualquer tipo de conflito de interesse do tema abordado no artigo com pessoas, entidades ou instituições.

Nomes dos autores e assinaturas:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Data: ____/_____/_____.



ASSOCIE-SE AO PNCQ

Atuação na América Latina e Europa



América latina

- Argentina
- Brasil
- Bolívia
- Chile
- Costa Rica
- Colômbia
- Equador
- Paraguai
- Peru
- Uruguai

Europa

- Espanha
- Finlândia (Provedor)
- França
- Itália
- Portugal

Qualidade Certificada

O PNCQ é acreditado pelo Cgcre como Provedor de Ensaio de Proficiência em conformidade com a ISO/IEC 17.043 sob o número 0013

Habilitação ANVISA REBLAS 069 Provedor de Ensaio de Proficiência

BPF Certificado ANVISA Boas Práticas de Fabricação

Empresa certificada pela ABNT em conformidade com a ABNT NBR ISO 9001:2008 sob o número 23.008/04

Contrate nosso Programa Básico

Bioquímica, Hematologia, Imunologia, Microbiologia, Parasitologia, Urinálise, Educação Continuada e Espectrofotometria. **GRÁTIS:** duas amostras de soro liofilizado em 2 níveis (10 mL cada) para controle interno de Bioquímica!



Benefícios

- Selo de Qualidade a preço de custo
- Assessoria Científica via e-mail
- PRO-IN em Tempo Real
- Gráfico de Tendência e Análise de DRM automático
- Indicadores de Desempenho
- PNCQ Gestor - Sistema de Gestão da Qualidade

Personalize com os Programas Avançados

Contrate os controles para todos os exames que seu laboratório oferece aos seus pacientes. Além de obrigatório pela ANVISA, garante a exatidão de seus laudos. Confira nosso Catálogo de Produtos em **www.pncq.org.br**



Desconto na mensalidade para sócios da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - SBAC!

Preencha já o seu cadastro e faça parte do maior Programa de Controle Externo de Qualidade do país!

PNCQ®
Programa Nacional de Controle de Qualidade

Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

Rua Vicente Licínio, 193 - Tijuca
Rio de Janeiro | RJ | CEP: 20270-340
Tel/Fax: 55 (21) 2569 - 6867
e-mail: pncq@pncq.org.br
Site: www.pncq.org.br