ISSN 2448-3877

SBAC

RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas

Brazilian Journal of Clinical Analyses

Volume 50 - Nº 02 | Ano 2018

ASSOCIADO EMPRESARIAL | SBAC

Seu laboratório com benefícios exclusivos na SBAC



Exposição da sua marca
Página exclusiva do laboratório no portal da **SBAC**, o que colabora para a exposição e consolidação da marca do seu laboratório.

Consultorias
Acesso a conteúdo exclusivo das **consultorias** da SBAC nas áreas **Contábil, Jurídica, Gestão e Marketing** através do nosso portal.

Inscrição no CBAC
Um benefício direto dessa associação é um INGRESSO para o CBAC*.

*com 12 mensalidades quitadas

CENTRAL DE COMPRAS
A grande novidade e lançamento exclusivo para o ASSOCIADO EMPRESARIAL é a CENTRAL DE COMPRAS.

Você se conecta a um sistema de compras conjuntas que privilegia micro e pequenos laboratórios, tornando-os mais competitivos com benefícios que somente os grandes compradores têm.

- **Preços menores**
- **Melhores condições de pagamento**
- **Acesso a grandes fornecedores**
- **Menores custos de estoque**
- **Uniformização de procedimentos**
- **Compras realizadas sem intermediários**



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

Horário de atendimento:
seg. a sex, de 8h às 17h.

sbac.org.br/associe-se

SBAC
Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

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

Editor Emérito/*Honorary Editor*
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 50 - Nº 2 - 2018
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)
Secretária-Geral/*General Secretary*

Mauren Isfer Anghebem (PR)
Secretária/*Secretary*

André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ)
Tesoureiro/*Treasurer*

Paulo Aparecido Brandão Pinto (SP)
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), Luiz 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*
Luiz Fernando Barcelos (RS

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 50/*Volume 50*

RBAC
Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Número 2/*Number 2*

Sumário/*Contents*

CARTA DO PRESIDENTE/*LETTER FROM THE PRESIDENTE*

101 A acreditação dos laboratórios clínicos
The clinical laboratory accreditation
Barcelos LF

EDITORIAL/*EDITORIAL*

102 Personalidades da História da Saúde II: HIPÓCRATES
Personalities of the History of Health II: Hippocrates
Neufeld PM

ARTIGO DE REVISÃO/*REVIEW*

105 Drugs that interfere with the results of laboratory tests: an integrative review of the literature
Medicamentos que interferem nos resultados de exames laboratoriais: uma revisão integrativa da literatura
Santos SLF, Borges RN, Barros KBNT

111 Avaliação comparativa entre os novos métodos e os métodos tradicionais de diagnósticos laboratoriais para as hemofilias: revisão integrativa
Comparative evaluation between the new methods and the current methods of laboratory diagnosis for hemophilia: integrative literature review
Rodrigues LML, Lobo GS, Rodrigues-Antunes S, Feio DCA

ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO/*UPDATE*

118 Deficiência de vitamina D (250H) e seu impacto na qualidade de vida: uma revisão de literatura
Deficiency of vitamin D (250H) and its impact on the quality of life: a literature review
Kratz DB, Silva GS, Tenfen A

ARTIGO ORIGINAL/*ORIGINAL ARTICLE*

124 Epidemiologia de exames e mortalidade presuntivos à infecção pelo papiloma vírus humano
Epidemiology of presumptive exams and mortality in human papilloma virus infection
Zerlotti LB, Freitas MR, Ribeiro M, Oliveira CJF, Rodrigues WF, Miguel CB, Paludo RLR

130 Desempenho da citologia em meio líquido na identificação de agentes microbiológicos cérvico-vaginais
Liquid medium cytology performance in identification of cervico-vaginal microbiological agentes
Silva RCG, Silva JI, Rodrigues EGA, Pontes CAC, Figueirêdo RPV, Oliveira SE, Lima CEQ, Peres AL

135 Análise do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de bactérias isoladas de amostras de urina em um hospital do sudeste de Minas Gerais
Analysis of the antimicrobial susceptibility profile of bacteria isolated from urine samples at a hospital in the southeast of Minas Gerais
Carneiro AA, Ferreira AP, Garcia PG

139 Incidência de síndrome metabólica em pacientes que utilizam os serviços do laboratório clínico da PUC do estado de Goiás
Incidence of metabolic syndrome in patients using the services of the clinical laboratory of PUC of Goiás state
Neves MM, Mesquita MM

Volume 50/*Volume 50*

RBAC
Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Número 2/*Number 2*

Sumário/*Contents*

144 Prevalência de atipias de significado indeterminado e sua relação com o papilomavírus em uma população de Caxias do Sul
Prevalence of atypias of indetermined meaning and its relationship with papilomavirus in a population of Caxias do Sul
Feijó JK, Cavagnolli G

149 Aplicabilidade do ensino de microbiologia para ciências da saúde
Applicability of the microbiology teaching for health sciences
Miranda Neto PAD, Santana HBM

153 Avaliação do *status* oxidativo, consumo alimentar de zinco e zinco plasmático em indivíduos infectados pelo HIV
Evaluation of oxidative status, food consumption of zinc and plasma zinc in HIV-infected individuals
Tonel D, Silva TO, Lazarotto AK, Muller DA, Lucca L, Ichikawa TTD, Dranka J, Rodrigues PRP, Gonçalves TL, Weber J, Gallina AL, Benvegnú DM

161 Dez anos da RDC 302/2005: avaliação da implantação em laboratórios de análises clínicas do estado de Santa Catarina
Ten years of RDC 302/2005: evaluation of implantation in laboratories of clinical analysis of Santa Catarina state
Lescowicz GH, Melo RF, Rateke ECM, Martinello F

171 Novos valores de referência veterinários para volume plaquetário médio (MVP), amplitude de distribuição plaquetária (PDW) e plaquetócrito (PCT) na microrregião de Curitibanos
New veterinary reference values for mean platelet volume (MVP), platelet distribution width (PDW) and platelet count (PCT) in the Curitibanos microregion
Mezaroba ME, Thomé J, Peres LRR, Rodrigues G, Veiga APM

COMUNICAÇÃO BREVE/*SHORT COMMUNICATION*

174 Análise comparativa de contagens de plaquetas entre metodologias de impedância e óptica em amostras de sangue de indivíduos hospitalizados
Comparative analysis of platelet count between electrical impedance and optical platelet count methods in blood samples from hospitalized individuals
Dzirba TA, Dionísio LM, Fabro JR, Langoski GA, Cruz BR, Bittencourt JIM, Krum EA, Borato DCK, Moss MF

179 Avaliação do perfil de infiltração e relevância do uso de estabilizantes celulares nas amostras de líquido cefalorraquidiano recebidas no Laboratório de Marcadores Celulares do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina
Infiltration profile evaluation and relevance of the use of cellular stabilizers in cerebrospinal fluid samples received by Cell Labelling Laboratory in Hematology and Hemotherapy Center of Santa Catarina
Heck NB, Coelho MP, Dametto GC, Colombo MDHP, Kalfeltz RS

184 Prevalência de enteroparasitas em indivíduos atendidos no Laboratório Municipal de Buriti dos Lopes, Piauí, Brasil
Prevalence of enteroparasites in individuals attended at the Buriti dos Lopes Municipal Laboratory, Piauí, Brazil
Sousa ACP, Costa LNG, Vieira JMS

RELATO DE CASO/*CASE REPORT*

190 Paciente acometido por leucemia mieloide aguda com T(6;9): relato de caso
Patient stricken by acute myeloid leukemia with T(6;9): Case report
Rosa TJ

194 INSTRUÇÕES AOS AUTORES / *INSTRUCTIONS FOR AUTHORS*



Luiz Fernando Barcelos

A acreditação dos laboratórios clínicos

The clinical laboratory accreditation

A acreditação dos laboratórios brasileiros já está disponível há quase 20 anos, sem que, inicialmente, tenha despertado um interesse maior. Apenas mais recentemente, todavia, acompanhando o grande movimento em busca da qualidade no setor industrial, tem-se observado um maior interesse da área da saúde.

Acreditação é um processo periódico e voluntário outorgado, principalmente, por sociedades científicas, como a SBAC, reconhecidas por sua respeitabilidade, prestígio e competência profissional, cujo objetivo é comprovar e implementar um sistema da qualidade que demonstre a capacidade organizacional e técnica de laboratórios clínicos.

Diferentemente das certificações ISO 9000, as auditorias realizadas nessas instituições são baseadas na norma ISO 15.189. Essa norma, além de processos de gestão, inclui a competência técnica no seu escopo. O número de laboratórios acreditados, embora ainda pequeno em relação ao total de laboratórios clínicos do Brasil, vem aumentando significativamente, a partir da última década.

A Agência Nacional de Saúde Suplementar (ANS) vem tentando estimular a acreditação na área da saúde e, nesse sentido, desenvolveu o conceito denominado de "Fator de Qualidade", que representa a aplicação de valores percentuais sobre o reajuste dos contratos escritos e firmados pelas operadoras de planos de saúde com seus prestadores de serviços acreditados, quando o Índice Nacional de Preços ao Consumidor - Amplo (IPCA) for utilizado. Dessa forma, é proporcionada a oportunidade de se obter um aumento na remuneração dos serviços médicos e de diagnóstico prestados às operadoras, o que, particularmente para os laboratórios clínicos, tem sido economicamente benéfico.

Os certificados de acreditação expostos nas áreas de circulação pública dos laboratórios clínicos, bem como exibidos em laudos e documentos dos planos de saúde, visam apresentar aos clientes o diferencial de excelência de um serviço acreditado. Essa estratégia é fundamental, já que permite aos clientes identificar os serviços com maiores índices de qualificação.

Para receber a acreditação, o laboratório terá que implantar e implementar um sistema da qualidade que consiste em documentar e organizar todos os processos, ter os documentos controlados, realizar os registros e ter um programa de avaliação da qualidade. Isso exigirá a participação de toda a equipe de trabalho do laboratório, levando a um maior comprometimento dos envolvidos. Importa mencionar que um sistema da qualidade, além de organizar e otimizar os processos, traz informações importantes que podem ser utilizadas na busca da melhoria contínua. O resultado desta busca trará, como efeito positivo para o laboratório, uma maior eficiência nas atividades desempenhadas, com menores perdas de material, redução do retrabalho, diminuição dos erros e maior credibilidade dos serviços que presta. Ao cliente, então, será oferecido o que há de mais importante num serviço de saúde: eficiência e confiança.

Não há dúvidas de que cada vez mais o cliente externo (e interno) exigirá qualidade dos serviços oferecidos e, inexoravelmente, essa deixará de ser um atributo diferencial para ser um constituinte intrínseco. Sendo assim, é fundamental que os laboratórios clínicos se integrem a esse movimento, cuja direção aponta para o futuro, assumindo definitivamente a qualidade no seu sistema de gestão.

Dr. Luiz Fernando Barcelos

Presidente da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC)

Personalidades da História da Saúde II: HIPÓCRATES

Personalities of the History of Health II: Hippocrates

Quem foi Hipócrates? A eterna pergunta sobre o Pai da Medicina. As únicas fontes antigas que mencionam o nome de Hipócrates, e que foram escritas perto do período de sua vida, são duas passagens de Platão. Uma delas é em *Protágoras* e a outra em *Fedro.* Na geração seguinte de filósofos, existe um breve comentário de Aristóteles, em *A Política*, que fala sobre a morte de Hipócrates, e uma outra menção a ele nos escritos médicos de Meno.

Em *Protágoras*, é atestado que Hipócrates era um nativo da ilha grega de *Kos* e que era aparentemente bem conhecido em sua época. Além disso, em *Fedro* é estabelecido que Hipócrates praticava medicina baseada em um princípio organístico. A ele é atribuído o princípio de que a natureza de qualquer componente ou órgão só pode ser adequadamente compreendida após análise cuidadosa do todo ao qual ela pertence. Em *Fedro*, a discussão gira em torno de uma analogia socrática entre a retórica e a medicina.

Em *A Política*, Aristóteles menciona Hipócrates pelo nome, o descreve como um grande médico e sugere que ele teria pequena estatura. Em seu ponto de vista, a grandeza de Hipócrates provinha de sua excelência como um médico, que cumpriu bem o seu dever. Ainda para Aristóteles, a importância de Hipócrates não era apenas devido a seu nascimento nobre ou riqueza ou tamanho físico, mas sim devido ao seu intelecto.

Aluno de Aristóteles, Meno, que escreveu um compêndio doxográfico do início da medicina grega, afirma que Hipócrates sustentava uma teoria sobre a doença, na qual a comida mal digerida ou a comida imprudentemente selecionada produz ar pútrido dentro do corpo, que invade os órgãos e tecidos, causando a doença. Essa teoria de putrefação é atribuída a Hipócrates, no chamado *Anonymous Londinensis*, que contém também alguns dos escritos médicos de Meno.

Para seus contemporâneos gregos, Hipócrates era considerado um médico famoso, mas ele era um entre muitos. Por exemplo, em seu histórico médico, Meno discute vinte médicos gregos famosos. Hipócrates não é apontado como mais importante do que os demais. Além disso, Platão refere-se a uma série de outros médicos em seus diálogos e ele parece sugerir que esses eram quase tão famosos e bem conhecidos por seus leitores quanto Hipócrates.

Com a crescente reputação de Hipócrates entre os seus muitos discípulos médicos, os estudiosos da biblioteca de Alexandria, no Egito, provavelmente, em algum momento durante o século IV a.C., começaram a buscar e a montar textos médicos associados com os ensinamentos de Hipócrates, juntamente com o material de outros médicos famosos de diversos centros de ensino gregos. É possível que eles tenham começado com um número razoável de manuscritos de autoria anônima dos séculos V e IV. Com o tempo, esses textos compilados foram sendo creditados, efetivamente, ao médico de *Kos*, no mais impressionante texto médico da Antiguidade, o *Corpus Hippocraticum.* Se o âmago da Coleção de Hipócrates, de fato, se formou nessa ou em alguma direção relacionada, talvez tenha continuado a aumentar devido

Recebido em 27/08/2018
Aprovado em 27/08/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800771

à compilação e incorporação incessantes de novos textos médicos de outras autorias. Assim, pode-se imaginar que, nos séculos seguintes, o nome de Hipócrates tenha ultrapassado a fama e o *status* da vida já proeminente que o verdadeiro Hipócrates tinha vivido.

Somado a isso, devem ser incluídos três situações fortuitas relacionadas com a fama de Hipócrates. Em primeiro lugar, os romanos do período imperial reverenciavam a Grécia do século V como a idade de ouro. Escritores gregos e pensadores daquele período eram considerados incomparáveis pela maioria dos intelectuais romanos. Esse tipo de avaliação romana romantizada da idade de ouro grega, sem dúvida, aumentava ainda mais a fama de Hipócrates. Hipócrates era, afinal, o mais conhecido de todos os médicos gregos do século V, na Roma de Nero. Em segundo lugar, enquanto o próprio Galeno questionou a autenticidade de alguns dos manuscritos de Hipócrates, ele, pessoalmente, reverenciou Hipócrates como o médico ideal. Isso foi realmente providencial. O aval pessoal de Galeno não poderia ter trazido para o nome de Hipócrates uma certificação mais duradoura e poderosa de seu valor por séculos a frente. Em terceiro lugar, não se pode negligenciar que os valores éticos expressos no Juramento de Hipócrates se coadunavam, em muitos aspectos, com aqueles associados à ética da vida humana, que eram defendidas pelo cristianismo. A aceitação de grande parte do Juramento, popularmente creditado a Hipócrates, pelos primeiros padres da igreja, contribuiu bastante para sustentar sua lenda.

Na realidade, dessa lenda, o que se sabe de mais concreto é que Hipócrates nasceu na ilha de *Kos*, que está localizada no mar Egeu, perto da costa da atual Turquia, entre os anos de 469 a 460 a.C. Sua morte parece ter ocorrido entre os anos de 399 a 370 a.C, em Tessália, sendo enterrado, todavia, perto de Lárissa, no continente grego. Sabe-se ainda que era filho de Heraclides e tinha o mesmo nome de seu avô paterno. Heraclides era um asclepíada, ligado à seita de médicos-sacerdotes que cultuavam o semideus Asclépio/ Esculápio e cuja prática se baseava no sobrenatural. Com essa origem familiar, é possível que Hipócrates tenha tido sua iniciação à medicina através de seu pai médico. De fato, posteriormente, estudou medicina e filosofia no *Asclepeion* de *Kos*, um templo de cura consagrado a Asclépio. No entanto, a partir de uma reação frente às ideias teúrgicas aceitas pelos médicos de sua época, rompe com essa proposta, fundando uma medicina menos mágica e mais naturalista. Nesse momento, passa a exercer uma medicina intinerante, viajando pela Grécia e Egito. Em suas viagens, entra em contato com outras escolas médicas, complementando seus conhecimentos e agregando mais técnica à medicina que praticava. Com o grande conhecimento acumulado, Hipócrates passou também a ensinar medicina a discípulos de diferentes lugares, em troca de pagamento.

Tendo em vista suas ideias naturalistas acerca da medicina e seu contato com outras escolas médicas, Hipócrates profere sua sentença revolucionária: *Não há nenhuma necessidade da invocação de deuses para explicar a saúde e a doença do homem.* Com base nessa assertiva, se fundamenta toda a medicina hipocrática. Na realidade, utilizando a razão, Hipócrates tenta construir uma medicina lógica que dê explicações racionais para os sintomas das enfermidades. Como ponto de partida de sua medicina, está a observação do doente. Para Hipócrates, nada pode substituir os dados clínicos. A partir de Hipócrates, o conhecimento médico transformou-se numa ciência sistemática, o que permitiu a análise e a interpretação dos diferentes quadros mórbidos, sem a inspiração divina e utilizando apenas a capacidade intelectual do médico.

Toda a Teoria Hipocrática só pôde ser construída em função das mudanças de paradigmas filosóficos ocorridas na Grécia antes do nascimento de Hipócrates. A ideia de fenômeno natural surge com os filósofos pré-socráticos que introduzem a noção de natureza (*physis*), ordem natural (*cosmos*) e lei natural (*nomos*). Esses

conceitos, ainda no período pré-socrático, são também estendidos ao ser humano em todos os âmbitos de sua vida. Utilizando esse arcabouço filosófico, então, Hipócrates criou uma doutrina lógica da doença.

Adepto da patologia humoral criada por Pitágoras e Alcmeão e da teoria dos quatro elementos da natureza (fogo, ar, água e terra) estabelecida por Empédocles, Hipócrates desenvolveu, a partir de suas observações clínicas, a Teoria dos Quatro Humores. Essa teoria afirma que existem quatro substâncias (bile amarela, bile negra, fleuma e sangue) que compõem o organismo dos seres humanos. O equilíbrio e o desequilíbrio desses quatro humores redundam em saúde e doença, respectivamente.

Cada um dos quatro humores está relacionado a um dos elementos da natureza (*physis)*. Desse modo, a bile amarela está associado ao fogo, a bile negra está associada à terra, a fleuma está associada à água e o sangue está associado ao ar. Centros de controle em diferentes órgãos coordenam essas substâncias no corpo humano. Assim sendo, a bile amarela é regulada pelo fígado, a bile negra é regulada pelo baço, a fleuma é regulada pelo cérebro e o sangue é regulado pelo coração.

Além disso, os humores representam também alguns dos componentes do coágulo sanguíneo, um estado determinado de temperatura e as estações do ano. Nesse sentido, a bile amarela representa o soro sanguíneo e é quente e seca e aumenta no verão, a bile negra representa a parte escura do coágulo e é fria e seca e aumenta no outono, a fleuma representa a fibrina e é fria e úmida e aumenta com o inverno e, por fim, o sangue representa a parte vermelha do coágulo e é quente e úmido e aumenta na primavera.

Uma correlação entre os humores e os temperamentos humanos foi ainda estabelecida. Nessa correlação, o temperamento colérico domina a bile amarela, o temperamento melancólico domina a bile negra, o temperamento fleumático domina a fleuma e temperamento sanguíneo domina o sangue.

Os textos de Hipócrates sobre medicina naturalista foram compilados, juntamente com diversos textos de outros autores anônimos, na obra *Corpus Hippocraticum,* composta por cerca de 72 livros e 59 tratados, que versavam, com maior ou menor profundidade, sobre anatomia, fisiologia, patologia geral e aplicada, terapêutica, prognóstico e diagnóstico, cirurgia, gineco-obstetrícia, doenças mentais e ética. De nota, devem ser citados ainda Os Aforismos, além do já mencionado Juramento Hipocrático. Importa mencionar também que a característica principal da obra de Hipócrates é a introdução de uma metodologia ao exercício médico.

Em resumo, a medicina hipocrática utiliza três paradigmas com alto grau de interrelacionamento. O paradigma clínico, que vê o doente como realidade essencial da medicina, o paradigma patológico, que interpreta a enfermidade como um desequilíbrio, e o paradigma que promove a *physis* como força que preserva o equilíbrio cósmico e individual e leva à cura.

BIBLIOGRAFIA

- Mena JM. Historia de la Medicina Universal. Bilbao. Ediciones Mensajero, 1987. 371pp.
- Entralgo PL. Historia de la Medicina. Barcelona. Masson, 2006. 717pp.
- Madera PG. Manual de Historia de la Medicina. 2. Ed. Málaga. Grupo Editorial 33, 2009. 277pp.
- Piñero JM. Breve Historia de la Medicina. 2. Ed. Madrid. Alianza Editorial, 2017. 300pp.
- Rovetto P. Ideas Médicas: Una Mirada Histórica. Cali. Prograrma Editorial Universidade del Valle, 2010. 316pp.
- Tubiana M. História da Medicina e do Pensamento Mágico. Lisboa. Editorial Teorema, 1995. 468pp.

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

Drugs that interfere with the results of laboratory tests: an integrative review of the literature

Medicamentos que interferem nos resultados de exames laboratoriais: uma revisão integrativa da literatura

Sandna Larissa Freitas dos Santos
Romênio Nogueira Borges
Karla Bruna Nogueira Torres Barros

Abstract
Objective: *To gather scientific knowledge about the use of drugs that cause interference in the results of laboratory tests. This is an integrative review of the literature that used Lilacs, SciELO and Medline as databases and to search for articles; the keywords in Portuguese and English were selected using Bireme's (DeCS) tests: tests Laboratory interactions, drug interactions and interferences. Research published in English, Portuguese or Spanish was published in the form of articles, reviews, dissertations and theses published between 2009 and 2016. Interference caused by medication is a major problem because the patient may be in use of several prescribed drugs, and mainly by self-medication. Among the most commonly used medications, paracetamol causes an increase in alkaline phosphatase and bilirubin, as well as some corticosteroids, such as hydrocortisone that elevates chlorine through salt and water retention. In hematological examinations the reduction of erythrocytes can be provoked by the use of acyclovir, amitripilina, captopril, cimetidina or levodopa. It emphasizes the importance of an effective clinical evaluation of the patient, so that the use of medicines is seen and thus, guarantee quality in the results of the laboratory tests.*

Keywords
Laboratory; Laboratory test; Drug

INTRODUÇÃO

A quality test result depends on the success of all processes involving the laboratory examination, since the collection of material to review and release the result. In the study of metabolism and the action of drugs in the body, it is known that this process leads to some changes in the organic operation itself and also produce metabolites (active or not). The metabolites have the aid of the circulatory system for transport (on excretion and/or site of action) of the urinary system (on excretion), among other systems.[1]

In laboratory diagnostic tests used in most cases of blood and urine, the tests search the type and quantity of substances that indicate or quantify for definition of the diagnosis of a particular disease. These substances and medicines are chemical origin and often resemble in structure. The diagnostic equipment and even chemical reagents using this information to identify and quantify, although not so accurate to differentiate them. Thus, any medicine can be identified as another substance, leading to an erroneous result.[2]

The verification of the quality of the sample according to the material and the tests requested by the doctor is extremely important, because pre-analytic factors may interfere in the results significantly such as medicine, hemolysis, lipemia, hyperbilirubinemia, collection time, practice, time of fasting, alcohol consumption and cigarette use.[3]

It is worth mentioning that the drugs interferes with the harmonious organic operating during the period of use or prolonged use, which this lack of control can also lead to altered lab results, positively or negatively. With that, a high consumption of drugs by the population with both order preventive as the most diverse pathologies, dressing andyess, the study aims to present the drugs that cause interference results in the context of the webbing.

[1]*Graduada em Farmácia pelo Centro Universitário Católico de Quixadá – Quixadá-CE, Brasil.*
[2]*Discente do curso de Farmácia pelo Centro Universitário Católico de Quixadá – Quixadá-CE, Brasil.*
[3]*Farmacêutica, Docente do Curso de Farmácia pelo Centro Universitário Católico de Quixadá – Quixadá-CE, Brasil.*

Instituição: Centro Universitário Católico de Quixadá – Quixadá-CE, Brazil.

Recebido em 15/05/2017
Artigo aprovado em 12/04/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800581

MATERIAL AND METHODS

The present study uses as integrative literature review method, which presents the objective to gather and summarize scientific knowledge already provided on the use of medicines that cause interference on the results of laboratory tests, allowing to evaluate and condense the evidence available in order to contribute to the development of knowledge on the subject.

For the development of this integrative review the following steps were covered: defining the guiding question (problem) and aims of research; establishment of criteria for inclusion and exclusion of publications (sample selection); Search in the literature; analysis and categorization of studies, presentation and discussion of results.[4] To guide the research, formulated the following question: what medicines cause interference on the results of laboratory tests?

The search was conducted in the following databases: Latin American literature and Caribbean Health Sciences (Lilacs), electronic library Scientific Electronic Library Online (SciELO), Medline – Medical Literature Analysis and Retrieval System online and VHL – Virtual Health Library. For the search of the articles were used keywords in Portuguese and English selected by consulting the health sciences descriptors (DeCS) of Bireme: laboratory tests, drug interactions and interference. Inclusion criteria were: research that cover the use of medications that cause interference in laboratory results, types of these interactions and approaches of innovations, which were published in English, Portuguese or Spanish; in the form of articles, reviews, dissertations and theses published from 2009 to 2016. As exclusion criteria: jobs that do not submit abstracts in their entirety in the databases and the library surveyed, it was in previous years and publications with duplicity.

The productions that established the criteria were selected for this study, and analyzed in their entirety. And so, proceeded with the analysis and organization of publications, in order to describe the results, showing the knowledge produced on the theme proposed.

RESULTS AND DEBATES

The laboratory tests that are used for several purposes in diagnosis of diseases, provide results should be interpreted with the concomitant problems identified in the clinical evaluation of the patient. Thus, the decision of the medical clinic with the help of the examination, confirms or excludes the diagnosis, and thus, set the appropriate therapeutic alternative. In addition, the test can also be used in diagnostic monitoring, that is, the professional has the monitoring of therapy and the development of Pathology.[1]

However, there is no absolutely precise examination, several factors that may interfere with test results such as: patient preparation (such as time of day, fasting or fed, drug injection, smoking), the sample collection form (such as venipuncture method, suitable for collection, identification of the sample), the sample handling (transport, processing, storage), analysis (such as accuracy of the method , accuracy of the method, automation), the issue of the results (with erroneous calculations, printed or verbal communication without clarity), effect of medicines.[5]

The interference caused by medicines constitutes a big problem, because the patient may be in use of multiple prescription drugs, and especially by self-medication. These drug interference can be divided into: *in vivo* physiological effects of the drug and its metabolites, and *in vitro* effects resulting from a physical-chemical property in analytical processes.[6,7] Table 01 presents examples of various medicines with their respective changes in laboratory tests.

The *in vivo* physiological effects can manifest themselves when the drugs induce lesions in tissues or organs, such as the anfoterencina B-induced Nephrotoxicity by medicines that alter organ functions such as simvastatin that increases levels of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase, by the effect of competition for medicines, as the offset of the thyroxine-binding proteins by phenytoin, and the interaction between medications, like amiodarone which increases the effect of Digoxin which, in turn, raising your serum concentration. The *in vitro* effects are manifested in interference of medicine with the method of analysis, as for example, ascorbic acid which in large quantity reduces the level of glucose in serum glucose oxidase method.[7,8]

Even with analysis technologies that have changed over the decades, it is still susceptible to interference by medicines for both enzymatic and immunological methods methods. With the knowledge of these interferences, new methods and apparatus to quantify or identify substance, are entered into the world market. These means of analysis are previously tested and have manuals that indicate the type of medicine interference. These tests follow a study that has a selection of medicine through eligibility criteria. They include in such judicious, items such as: high serum concentration of medicine, knowledge of interference in the method, the frequency of use of the medicine, the *in vivo* relevance, recent documentation.[9]

It is important to note that a medication may interfere with the determination of an analyte specifically for a methodology, without interfering the results of tests for the same analyte accomplished through other methods. As an example, the dosage of glucose in the urine, when performed by enzymatic methods, have their values reduced by Ascorbic acid and levodopa. However, if you used method with Benetict solution, glucose levels can be increased with the use of Ascorbic acid, chloral hydrate and cefalosporima.[1]

Table 01 - Examples of drugs with his appointment, the possible changes in laboratory tests and its mechanism. (Part 1)

Medicine	Indication	Laboratory	Changes	Mechanism of action
Paracetamol	Antipyretic	Alkaline phosphatase	Increase	High dosage associated with ???
	Analgesic1	Bilirubin	Increase	Hepatic injury due to high dosage
		Glucose	Decrease	
		Chlorine	Increase	
		Uric acid	Increase	
		Sodium	Decrease	
		Bicarbonate	Decrease	
		Calcium	Decrease	
		Chlorine	Increase	
Acetazolamide	Ocular hypotensive; Diuretic	Bilirubin	Increase	
		Uric acid	Increase	
		Glucose	Increase	
		Ammonia	Increase	
		Alkaline phosphatase	Increase	
		Sodium	Decrease	
		Bicarbonate	Decrease	
		Calcium	Decrease	
Acyclovir	Initial treatment and prophylactic treatment of mucosal and cutaneous herpes infection	Urea	Increase	Leukopenia
		Alkaline phosphatase	Increase	
		Bilirubin	Increase	
		Creatinina	Increase	Reversible renal failure
Amitriptyline	Antidepressant	Alkaline phosphatase	Increase	
Ascorbic acid	Food supplement	Bilirrubin	Increase	
		Urinary glucose	False (+)	Reagent cupric sulfate
			False (-)	Glucose oxidase method
Baclofen	Relaxing skeletal muscle	Glucose	Increase	
		Ammonia	Increase	
		Bilirubin	Decrease	
Corticosteroids	Anti-inflammatory steroid	Chlorine	Increase	Salt-water Retention
Dexamethasone		Glucose	Increase	Gluconeogenesis
Hydrocortisone		Phosphor	Decrease	Glucose spending
Betamethasone		Potassium	Decrease	Renal loss
Methylprednisolone		Sodium	Increase	Salt-water Retention
Prednisone		Amylase	Increase	
Prednisolone		Cholesterol	Increase	
		Protein	Increase	
		Thyroxine	Decrease	
Buspirone	Anxiolytic	AST	Increase	
		ALT	Increase	
Calcitriol	Food supplement	Cholesterol	Increase	
		Magnesium	Increase	
		Urea	Increase	
Captopril	Antihypertensive	Direct coombs	Increase	
		Cholesterol	Decrease	
		Urinary acetone	False (+)	Use of the reagent based on sodium nitroprusside
		Potassium	Increase	Hypoaldosteronism
		Urea	Increase	
		Creatinine	Increase	
Cephalexin	Antibiotic	Urinary glucose	False (+)	Reagent cupric sulfate
Chlorpropamide oral	Antidiabetic	Direct coombs	Positive	
		Cholesterol	Decrease	
		Sodium	Decrease	Uncontrolled increase secretion of ADH5
Cimetidine	Antiulceroso	AST	Increase	
		ALT	Increase	
Cyclosporine	Immunosuppressant	Potassium	Increase	Decreased excretion
Diazepam	Anxiolytic	Urinary glucose	False (-)	Method of glucose oxidase
Diltiazem	Antianginal	Bilirubin	Increase	
		Uric acid	Increase	Leads to the appearance of the drop

Table 01 - Examples of drugs with his appointment, the possible changes in laboratory tests and its mechanism. (Part 2)

Medicine	Indication	Laboratory	Changes	Mechanism of action
Enalapril	Antihypertensive	Potassium	Increase	Hypoaldosteronism Decreased renal excretion
Ethambutol	Antitubercular agent	Uric acid	Increase	
Furosemida	Antihypertensive Diuretic	Magnesium	Decrease	Diuretic action
		Potassium	Decrease	Diuretic action
		Sodium	Decrease	Diuretic action
		Ammonia	Increase	
		Amylase	Increase	
		Uric acid	Increase	
Gentamicin	Antibiotic	Magnesium	Decrease	Urinary loss of potassium, magnesium
		Potassium	Decrease	Renal tubular toxicity
		Protein	Increase	
		Urea	Increase	
		AST	Increase	
		Alkaline phosphatase	Increase	
		Creatinine	Increase	
		Sodium	Decrease	
		Calcium	Decrease	
Glibenclamide	Antidiabetic oral	Prothrombin time	Decrease	
		Sodium	Decrease	
Indapamide	Antihypertensive diuretic	Glucose	Increase	
		Uric acid	Increase	
		Chlorine	Decrease	
		Magnesium	Decrease	
		Potassium	Decrease	
		Sodium	Decrease	
Insulin	Antidiabetic	Potassium	Decrease	
		Catecholamine	Increase	
Levothyroxine	Repositor hormone	Glucose	Increase	
		Calcium	Increase	Promoter mobilization
Mannitol	Laxative	Sodium	Decrease	Diuretic effect
Metformin	Antidiabetic oral	Bicarbonate	Decrease	Acidosis
		Iron	Decrease	Bad absorption of vit. B12
Metronidazole	Antifungal	Glucose	Decrease	
Omeprazole	Antiulcerous	Gastrin	False	
Oxacillin	Antibiotic		False (+)	
		Urinary protein	False (+)	
Penicillin	Antibiotic	Albumin	Decrease	
		Urinary protein	Increase	
		Protein	False (+)	
		Urinary protein	False (+)	
		Direct Coombs	Positive	
Piroxicam	Anti-inflammatory	Chlorine	Increase	
		Sodium	Increase	
Reserpine	Antihypertensive	Catecholamine	Decrease	
Risperidone	Antipsychotic	Potassium	Decrease	Hypokalemia
		Sodium	Decrease	Hyponatremia
Spironolactone	Anti -hypertensive diuretic	Potassium	Increase	
		Digoxin	False ?	
		Sodium	Decrease	Diuretic Effect
Sulfamethoxazole	Antibiotic	Protein	Increase	
		Uric acid	Increase	
Vancomycin	Antibiotic	Urea	Increase	Nephrotoxicity
Valsartan	Antihypertensive	Potassium	Increase	

Source:Barros; Barros[10]; Santos; Torriani[3]

There are many drugs that interfere in laboratory tests, both *in vitro* as *in vivo*, being the latest also called adverse reactions to medicines. An example of analytical interference is the false increase of the values of fructosamine in serum for patients using the captopril. As an example of interference by physiological effect can cite the enalapril and hydrochlorothiazide that cause changes in dosages of uric acid in serum. Other interference by physiological effect is observed in the use of propranolol and/or levothyroxine on examination of thyroxine (T4) free serum.[11]

It should be emphasized also that several classes of medications, besides the possibility of causing dyscrasias, can interfere with laboratory tests and, consequently, the clinical diagnosis. Hematologic changes induced by drugs can be avoided through measures such as monitoring of medicines, consisting of a pharmacovigilance practice that can be optimized through the mutual cooperation of different health professionals, always seeking the welfare of the patients.[12] Table 02 presents examples of hematologic changes that some medications can cause.

Studies show that the antihypertensive drug class represents complications for the profile lipid. The use continuous of diureticos thiazide (e.g.hydrochlorothiazide and chlorthalidone) raises the levels of total cholesterol (TC), the lipoproteina of low density (LDL) and lipoproteins of very low density (VLDL-C). However, the levels of lipoproteins of high density (HDL) does not suffer changes. The patients with hipertension and diabetes type 2 that make use of these medicaments are at risk before their interference in lipid metabolism.[13]

Table 02 - Haematological Examinations that have interference with medicines

Exam	Interference	Examples of medicines
Protombina time	Increases	allopurinol, cimetidine, diclofenac, dypirone, erythromycin, fluconazole, isoniazid, methyldopa
	Decreases	acetylsalicylic acid, azathioprine, doxycycline, penicillin, rifampicin
Fibrinogen	Increases	salicylates, pyrazinamide
	Decreases	atenolol, prednisone, sinvastantina
Globular sedimentation speed	Increases	carbamezepina, cyclosporine, dexamethasone, misoprostol
	Decreases	budesonide, cortisone, trimethoprim
Mean Corpuscular hemoglobin concentration	Increases	acyclovir
	Decreases	multivitamin
Red cells	Increases	danazol, erythropoietin, hydrochlorothiazide
	Decreases	acyclovir, amitripilina, captopril, cimetidine, levodopa, prilocaine, piroxicam
Mean corpuscular hemoglobin	Increases	oral contraceptives
	Decreases	acetylsalicylic acid
Hematocrit	Increases	atropine, clozapine, carvediol, cefoxitin
	Decreases	enalapril, dypirone, phenytoin, losartan, ofloxacino, theophylline
Hemoglobin	Increases	interferon, ivermectin, hydroxyurea
	Decreases	ampicillin, acetazolamide, ketoprofen, clozapine
Platelets	Increases	cefazolin, danazol, lithium, meropenem, miconazole
	Decreases	albendazole, amioridona, azathioprine, buspirone

Source: Ferreira [12]

It is vital that drug interventions in laboratory tests are evaluated through clinical studies that have purpose to quantify the impact of variations in patient care and laboratory professionals know the limitations of the methodologies employed and the appropriate instructions.

CONCLUSION

Good practices in clinical and toxicological analysis are important to identify, reduce and/or eliminate the sources of potential errors in laboratory diagnosis. This will require continuing education of working professionals in clinical and toxicological analysis. One must be careful with the use of vitamins by the patient, since many of them may interfere with laboratory tests, such as Ascorbic acid which can cause false-negative results for determination of glucose, cholesterol, triglycerides and uric acid.

It is observed that many variables can interfere with the performance of the analytical phase and, consequently, the accuracy and precision of the results of the examinations, vital to medical conduct and, ultimately, for the well-being of the patient.

With that stresses the importance of enhancing the knowledge of professionals to be transmitted the required information to the population and to reduce the occurrence of these interferences.

Resumo

Objetivo: Obter conhecimento científico sobre o uso de drogas que causam interferência nos resultados de testes laboratoriais. Trata-se de uma revisão integrativa da literatura que utilizou bancos de dados da Lilacs, da SciELO e Medline, e, para a busca de artigos, foram selecionadas as palavras-chave em Português e Inglês utilizando-se os testes da Bireme (DeCS): testes interações laboratoriais, interações medicamentosas e interferências. A pesquisa publicada em Inglês, Português ou Espanhol foi publicada sob a forma de artigos, resenhas, dissertações e teses publicadas entre 2009 e 2016. A interferência causada pela medicação é um grande problema porque o paciente pode estar usando várias drogas prescritas e automedicação. Entre os medicamentos mais utilizados, o paracetamol provoca um aumento da fosfatase alcalina e bilirrubina, bem como alguns corticosteroides, como a hidrocortisona, que eleva o cloro devido à retenção de sal e água. Nos exames hematológicos, a redução dos eritrócitos pode ser provocada pelo uso de aciclovir, amitripilina, captopril, cimetidina ou levodopa. Enfatiza-se a importância de uma avaliação clínica efetiva do paciente, de forma que o uso de medicamentos seja observado e, assim, seja possível garantir a qualidade nos resultados dos testes laboratoriais.

Palavras-chave

Laboratório; Teste de laboratório; Medicamento

REFERÊNCIAS

1. Sobral APO, Pereira PF. Interfering the pre-analytics phase in relation to the preparation of patients in Clinical Laboratory Tests. NewsLab. 2012, 111:18.
2. Guimarães C, Wolfart M, Brisolara MLL, Caroline Dani C. O Laboratório clínico e os erros pré-analiticos. Porto Alegre. Revista do Hospital das Clínicas de Porto Alegre. 2011.
3. Santos L, Torriani MS, Barros E. Medicamentos na Prática da Farmácia Clínica. Porto Alegre: Artmed ed., 2013. 1.120p.
4. Mendes KDS, Silveira RCCP, Galvão CM. Integrative literature review: A research method to incorporate evidence in health care and nursing. Texto Contexto Enferm, Florianópolis, 2008 Out-Dez; 17(4): 758-64. Available at: http://www.scielo.br/pdf/tce/v17n4/18.pdf. Access in: 27 Apr 2016. (Artigo em Português).
5. Shcolnik W. Erros laboratoriais e segurança do paciente: Revisão Sistemática. Dissertação (Mestrado) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2012, defendida e aprovada em 27 de fevereiro de 2012.
6. Golan DE, Tashjian Junior AH; Armstrong EJ; Armstrong AW. Principles of pharmacology: the pathophysiologic basis of pharmacotherapy. 2a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. 952 p. Monografia em Português.
7. McPherson R, Pincus M.R. Henrys clinical diagnosis and management by laboratory methods. 22 ed. Philadelphia: Elsevier; 2011.
8. Fletcher BC, et al.Study of drugs used by patients in clinical analysis laboratory and their interferences in laboratory tests: a literature review. Electronic journal of Pharmacy, 2009,6(1):33-43.
9. Félix JT, Baloch LDC, Veras HNH. Study of drugs used by patients in a clinical laboratory and possible changes in laboratory tests. E-magazine Science,3 (1), set, 2015.
10. Barros EJ, Barros HMT. Medicines in clinical practice. Porto Alegre: Porto Alegre: Artmed; 2010.
11. Sharma, Santiago Almeida Ce, LC. Laboratory exams interference caused by antihypertensive drugs used in Brazil. View. Eletrôn. Health Updates. Salvador, 2016, 3 (3), 101-113. Jan/jun.
12. Ferreira AL, Rocha CP, Vieira LM, Dusse LMS, Junqueira DRG, Carvalho MG. Alterações hematológicas induzidas por medicamentos convencionais e alternativos. Rev. Bras. Farm. 2013;94(2):94-101.
13. Santos FBF, Balzaneli ES, D'Andrade MRP. Avaliação do perfil lipídico de pacientes diabéticos e hipertensos tratados com captopril. J. Bras. Patol. Med. Lab. São Paulo. 2009;45(3):207-12.Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442009000300005&lng= en&nrm=iso>

Correspondência

Sandna Larissa Freitas dos Santos

Av. Placido Castelo, 1909, Central

Quixadá-CE, Brasil

Avaliação comparativa entre os novos métodos e os métodos tradicionais de diagnósticos laboratoriais para as hemofilias: revisão integrativa

Comparative evaluation between the new methods and the current methods of laboratory diagnosis for hemophilia: integrative literature review

Luiza de Marilac Leão Rodrigues[1]
Gabriela de Sousa Lobo[1]
Symara Rodrigues-Antunes[2]
Danielle Cristinne Azevedo Feio[2]

Resumo
A hemofilia é uma coagulopatia hereditária ligada ao cromossomo X, causada pela deficiência dos fatores VIII (hemofilia A) e IX (hemofilia B). Essa doença acomete cerca de 1:10.000 nascidos vivos do sexo masculino na hemofilia A e de 1:40.000 na hemofilia B no mundo. Este estudo buscou avaliar os métodos atuais e os novos métodos de diagnóstico laboratoriais em fase de testes para detecção e acompanhamento dos pacientes com hemofilia. Realizou-se um estudo de revisão integrativa da literatura mediante busca de artigos indexados, utilizando as plataformas de dados PubMed e SciELO. A partir da pesquisa realizada foram selecionados oito artigos, categorizados em: Técnica Inovadora; Diagnóstico molecular; Método modificado e Potencialização de sensibilidade. Com essas novas técnicas será possível, com maior especificidade, a quantificação do fator VIII, identificação e diferenciação de anticorpos inibidores de anticorpos não inibidores; análise dos genes FVIII, FIX e outros genes da hemostasia, por técnicas de Citometria de Fluxo e o Biossensor de Ressonância de Plasmon de Superfície; detecção de deleções, inserções e mutações conhecidas ou novas através do Sequenciamento de Nova Geração, podendo esses resultados serem correlacionados com outros testes para melhor definição dos fenótipos clínicos da doença.

Palavras-chave
Hemofilia; Diagnóstico; Inovação

INTRODUÇÃO

A hemofilia é uma doença genética recessiva ligada ao cromossomo X, que acomete principalmente os homens, sendo as mulheres principalmente portadoras desse distúrbio da coagulação sanguínea.[1] A hemofilia ocorre devido a mutações nos genes F8 e F9, responsáveis pela síntese dos fatores VIII (FVIII) e IX (FIX), respectivamente.[2] A ausência ou diminuição do fator VIII causa a hemofilia A (HA), que é dividida em hereditária ou adquirida (presença de autoanticorpos), enquanto que a deficiência do fator IX é responsável pela hemofilia B (HB).[3]

As manifestações clínicas da doença podem ser classificadas em leve, moderada ou grave, dependendo do nível dos fatores VIII ou IX.[4] Cerca de 30% dos pacientes com hemofilia A, na sua forma grave, acabam desenvolvendo anticorpos inibidores contra o FVIII, o que pode consequentemente levar a complicações significativas para o tratamento dos hemofílicos.[5]

O diagnóstico atual das hemofilias baseia-se na quantificação da atividade coagulante dos fatores VIII (FVIII:C) e IX (FIX:C) pelo método coagulométrico e quantificação do FVIII:C pelo método cromogênico.[6] O ensaio Bethesda por Nijmegen[7] é realizado para verificar se há presença de aloanticorpos ou autoanticorpos, porém esses métodos para o diagnóstico das hemofilias proporcionam sensibilidade limitada, visto que há uma determinada barreira diante da quantificação dos níveis dos fatores VIII ou IX e dos anticorpos inibidores. Muitos métodos vêm sendo testados, como, por exemplo, o Biossensor de Ressonância de Plasmon de Superfície (SPR) e a Citometria de Fluxo (CF), usados para análise de anticorpos inibidores, e o Sequenciamento de nova geração (NGS), que serve para analisar e detectar possíveis alterações nos genes dos fatores VIII e IX.[8-12]

[1]*Biomédica. Faculdade Metropolitana da Amazônia – Belém-PA, Brasil.*
[2]*Biomédica. Doutora em Neurociências e Biologia Celular pela Universidade Federal do Pará. Professora – Faculdade Metropolitana da Amazônia – Belém- PA, Brasil.*

Instituição: Faculdade Metropolitana da Amazônia – Belém-PA, Brasil.

Recebido em 19/05/2018
Artigo aprovado em 23/08/2018
DOI: 110.21877/2448-3877.201800706

Por este motivo reconhece-se a necessidade de revisão sobre o tema, realizando-se um cuidadoso levantamento sobre os métodos diagnósticos disponíveis para a hemofilia. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento bibliográfico com posterior avaliação dos métodos diagnósticos, comparando-os com os diagnósticos atuais, a fim de apontar possíveis técnicas laboratoriais mais promissoras para detecção e acompanhamento dos hemofílicos.

MATERIAL E MÉTODO

O presente estudo constitui-se de uma revisão integrativa da literatura, norteada pela seguinte pergunta "Quais são os possíveis novos métodos de diagnóstico para hemofilia"? O levantamento de dados ocorreu no mês de janeiro de 2017, incluindo artigos publicados nos últimos seis anos (2011-2016). As bases de dados científicas utilizadas foram PubMed e SciELO (*Scientific Eletronic Library Online*), utilizando os descritores em português: "diagnóstico; técnicas; hemofilias; novas; anti-FVIII", e os descritores em inglês: "*diagnostic*; *techniques*; *haemophilia*; *new*, *anti-FVIII*", organizados em "novas técnicas diagnóstico hemofilia", "diagnóstico hemofilia anti-FVIII", "*new techniques diagnostic haemophilia*" e "*diagnostic haemophilia anti-FVIII*".

A busca e a seleção dos artigos foram realizadas por dois revisores de forma independente e um terceiro revisor, sempre que não houvesse consenso na inclusão/exclusão de algum trabalho.

Os parâmetros para inclusão de trabalhos seguiram os seguintes critérios: trabalhos que abordassem sobre novos métodos de diagnóstico para as hemofilias; métodos de diagnósticos em fase de testes laboratoriais e clínicos; artigos que avaliassem os métodos de diagnósticos atuais para as hemofilias; artigos completos e estudos realizados em humanos. Já como critérios de exclusão foram adotados os seguintes parâmetros: artigos publicados há mais de seis anos ou que não apresentassem novos métodos de diagnóstico, não estivessem em fase de testes laboratoriais, artigos de revisão e em outros idiomas, além do português e inglês.

RESULTADOS

A partir da pesquisa realizada nas bases de dados, foram encontrados os seguintes resultados no PubMed, utilizando os diferentes descritores: "novas técnicas diagnóstico hemofilia" e "diagnóstico hemofilia anti-FVIII" 0 artigos; "*new techniques diagnostic haemophilia*" 116 artigos; "*diagnostic haemophilia anti-FVIII*" 22 artigos, que somaram 138 artigos, sendo três repetidos e, no final, totalizando 135 artigos. Na base de dados SciELO não foram encontrados artigos com esses descritores supracitados.

Após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, foram selecionados para esta revisão oito artigos, todos de perfil de ensaio clínico. Destes, dois abordavam o diagnóstico molecular, um utilizava método de diagnóstico modificado, três fizeram uso de mais de uma técnica para avaliar a sensibilidade do teste e dois artigos abordavam a aplicação de técnicas inovadoras.

Os artigos foram distribuídos a partir da classificação dos testes nas seguintes categorias: Técnica Inovadora; Diagnóstico molecular; Método modificado e Potencialização de sensibilidade, como pode ser observado na Figura 1.

Figura 1 - Classificação das novas técnicas diagnósticas

Categoria	Autor/Data	Considerações
1 - Técnica Inovadora	Hausammann et al, 2013[13]	Utilização de DARPins[a], que imitam os epítopos que se ligam ao Bo2C11 de inibidores de FVIII, analisados através dos métodos Bethesda modificado e ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA).
	Kocot et al, 2015[10]	Detecção e distinção de anticorpos inibidores e não inibidores através de um Biossensor SPR[b], com medições realizadas nos dispositivos BIAcoreX e BIAcoreX100.
2 - Diagnóstico Molecular	Lyu et al, 2016[11]	Verificação de inversões no íntron 22 e mutações sem inversão nos genes F8 e F9 - identificadas por alto rendimento/sequenciamento de nova geração (NGS) e confirmadas por sequenciamento de Sanger, comparadas com testes de inibidores dos fatores VIII e IX - método Bethesda.
	Bastida et al, 2016[8]	Análise simultânea por sequenciamento de nova geração (NGS) de genes específicos (F2, F5, F8, F9, F10, F11, VWF) e detecção de mutações como duplicação, inserções e deleções de genes, incluindo a identificação de novas mutações, com resultados concordantes com os obtidos por sequenciamento de Sanger (SS).
3 - Método Modificado	Milos et al, 2014[12]	Avaliação de hemostase através de análise qualitativa e quantitativa de TTPa com resultados apresentados em forma de curvas feitas a partir do *software* Mariakerd Bélgica.
4 - Potencialização de Sensibilidade	Irigoyen et al, 2011[14]	Detecção de anticorpos inibidores anti-FVIII por Citometria de Fluxo, comparado com ELISA e Bethesda modificado.
	Miller et al, 2013[15]	Medição de anticorpos inibidores do fator VIII por Imunoensaio de Fluorescência (FLI) comparado com o ensaio de Nijmegen Bethesda (NBA) e o Ensaio cromogênico Bethesda (CBA).
	Kahle et al, 2015[16]	Mapeamento de epítopos de inibidores anti-FVIII com análise da ligação através de ELISA.

a. *Designed Ankyrin Repeat Proteins*; b. Biossensor de Ressonância de Plasmon de Superfície

A distribuição percentual dos artigos nos novos possíveis métodos de diagnóstico, como visto na classificação de categorias, foi de 12,5% para o método modificado, 25% tanto para técnicas inovadoras como para o diagnóstico molecular e 37,5% para a potencialização de sensibilidade.

DISCUSSÃO

Devido à necessidade de se desenvolverem testes diagnósticos com maior sensibilidade para a detecção e acompanhamento de portadores e indivíduos doentes com hemofilia, esta revisão buscou reunir estudos em fase de testes clínicos que abordem novas técnicas de diagnóstico. Essas técnicas abordadas buscam identificar anticorpos inibidores, avaliar os genes da hemostasia e criar marcadores para os antígenos ligados ao FVIII e epítopos ligados aos anticorpos anti-FVIII.

Indivíduos que possuem hemofilia A adquirida ou hereditária podem desenvolver anticorpos inibidores contra o fator VIII de coagulação.[17] Os anticorpos inibidores são responsáveis por neutralizar a atividade pró-coagulante do FVIII, e isso ocorre devido ao bloqueio funcional dos epítopos da proteína, comprometendo o tratamento dos pacientes hemofílicos.[18] Para melhor compreensão dos estudos selecionados, estes foram subdivididos em categorias, sendo eles discutidos entre si e com os métodos atualmente utilizados para diagnóstico das hemofilias nas seções seguintes do presente artigo.

Categoria 1: Técnica Inovadora

Kocot et al.[10] desenvolveram o Biossensor de Ressonância de Plasmon de Superfície (SPR), que avalia a presença de aloanticorpos e de autoanticorpos. Para realização do teste, o FVIII foi colocado na superfície do Biossensor, depois a amostra do paciente e em seguida adicionou-se o fator IX ou fator Xa ativado (FXa), formando o complexo Tenase. A não ocorrência da ligação significa que há presença de anticorpos inibidores na amostra do paciente. O estudo foi realizado em 16 pacientes com anticorpos inibidores (positivo nos testes de ELISA e Bethesda modificado), cinco pacientes com anticorpos não inibidores (positivo no ELISA e negativo no Bethesda modificado) e 12 pacientes controles saudáveis. As medições foram realizadas a partir dos dispositivos BIAcoreX e BIAcoreX100. O FIX apresentou sensibilidade e especificidade diagnóstica de 100%, enquanto que o FXa apresentou sensibilidade de 88,2% e especificidade de 100%. Ao comparar com o método de ELISA, este apresentou sensibilidade de 87,5% e especificidade de 76,6%, utilizando-se como método de referência o Bethesda modificado.

Em busca de aumentar a sensibilidade na detecção de anticorpos inibidores, Hausammann et al.[13] substituíram o antígeno FVIII por proteínas de ligação artificiais, conhecidas como DARPins (*Designed Ankyrin Repeat Proteins*), que foram selecionadas através do Ribosome Display. Bibliotecas N2C e N3C DARPin foram utilizadas para encontrar ligantes à região Bo2C11 do anticorpo anti-FVIII. Os DNAs codificadores de DARPin foram purificados, sequenciados e as reações de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) analisadas com o *software* de Análise de Sequência v5.2. A resistência de ligação de DARPins purificados foi analisada por Ressonância de Plasmon de Superfície (SPR) no Biacore X100, onde se observou que os DARPins diméricos apresentaram aumento de ligação em cerca de mil vezes em relação aos DARPins monoméricos. Quando analisadas por ELISA, observou-se aumento de ligação a Bo2C11 dos DARPins diméricos eBo01-38 e eBo38-38 em relação aos DARPins monoméricos eBo01 como eBo38. Concluise que os DARPins podem imitar epítopos de FVIII utilizando o anticorpo monoclonal inibitório humano anti-FVIII na região Bo2C11 Os DARPins monoméricos podem neutralizar a ligação de Bo2C11 a FVIII e os DARPins diméricos apresentam uma neutralização cem vezes maior.

O método dos DARPins tem como objetivo isolar os epítopos permitindo a criação de assinaturas dos anticorpos anti-FVIII de pacientes com hemofilia A, visto que a ligação pode ser observada tanto pelo SPR quanto pelo método de ELISA. A neutralização da ligação de Bo2C11 pelos DARPins também deve ser alvo de novos estudos. Essa nova técnica poderá no futuro fazer a distinção de anticorpos inibidores de não inibidores. O formato molecular dos DARPins pode ser livremente escolhido, criando uma ampla série de proteínas de fusão e conjugados, podendo ser aglutinantes para o desenvolvimento de novos sistemas de detecção diagnóstica, ou até mesmo substituir anticorpos em ensaios clínicos; logo, características de especificidade podem ser definidas de acordo com a patologia a ser diagnosticada. Os DARPins apresentam produção de baixo custo e rápida geração em bactérias.[19]

Assim como o método de DARPins, o Biossensor SPR realiza medições capazes de identificar anticorpos inibidores, porém apenas o Biossensor realiza a diferenciação entre esses anticorpos dos não inibidores. O teste de ELISA, por sua vez, detecta esses anticorpos, entretanto não é capaz de fazer a distinção entre eles, podendo gerar resultados falso-positivos para anticorpos inibidores. Já o Bethesda realiza a detecção apenas de anticorpos inibidores, todavia há dificuldades na quantificação através desse teste em baixas titulações.[20]

O Biossensor SPR é um método capaz de detectar, quantificar e avaliar a atividade inibidora de autoanticorpos ou aloanticorpos, utilizando um pequeno volume de amostra de <200µL, com duração de análise de menos de uma hora.[21] Desta forma, as duas metodologias apresentadas na categoria de técnicas inovadoras mostram-se promis-

soras como possíveis novos métodos de diagnóstico dos anticorpos inibidores de não inibidores associados às hemofilias, em relação aos métodos atuais.

Categoria 2: Diagnóstico molecular

Lyu et al.[11] realizaram a técnica de sequenciamento de alto rendimento nos genes F8 e F9, também conhecida como sequenciamento de nova geração (NGS), em pacientes com hemofilia A (29 famílias), B (11 famílias) e seus parentes do sexo feminino, para verificar se neste último grupo existiam portadoras da doença. Os pacientes em estudo foram submetidos aos testes padrões para quantificação da atividade coagulante dos fatores FVIII: C e FIX: C, teste de Bethesda para verificação da presença ou ausência de inibidores e testes confirmatórios para PCR e sequenciamento de Sanger (SS).

Os resultados no NGS estavam de acordo com testes padrões e detectaram novas mutações em relação ao sequenciamento Sanger. No grupo de pacientes com HA foram encontradas três mutações novas: c.5724G>A (p.Trp1908*), c.6116-1_6120delGAGTGTinsTCC (p.Lys2039 Ilefs*13) e c.5220-2A>C, três pacientes apresentaram o inibidor de FVIII; nesses pacientes foram detectados a presença de duas mutações e um íntron de inversão correspondente a um éxon de deleção. Já no grupo de pacientes com HB foram detectadas oito mutações recorrentes (seis missense e dois nonsense), dois pacientes apresentaram a mutação c.1183T>C (p.Phe395Leu), porém apenas um deles apresentava inibidor de FIX.[11]

Bastida et al.[8] examinaram vinte pacientes com fenótipos de distúrbios de coagulação hemorrágico hereditário (IBCDs), confirmados previamente e validados pelo sequenciamento de Sanger. O objetivo era analisar a aplicabilidade de um painel com 23 genes associados à hemostasia utilizando a NGS na plataforma IlluminaMiSeq para detecção de variantes. Nos resultados demonstrou-se a deficiência do FVIII como a mais comum (oito pacientes), seguida da deficiência na produção do fibrinogênio (três pacientes), deficiências de FIX, FX, FXIII (três pacientes), redução do FII e FXI e DvW com dois casos cada.

O painel de 23 genes proporcionou identificar as variantes associadas aos genes que codificam os fatores de coagulação da via intrínseca F8, F9 e F11 e genes da via extrínseca F2 e F5. Foram encontradas 21 variantes patogênicas, incluindo seis novas mutações (c.5803delT (p.Tyr1935Ilefs*10); c.197A>T (p.Lys66Ile); c.1653delT (p.Gly552Alafs*16); c.680G>A (p.Gly227Asp); c.424G>A, c.1351A>C (p.Glu142Lys, p.Ile451Leu); c.553delT (p.Tyr185Met)), sendo 18 missense e três alterações *frameshift* devido a microdeleções. A hemofilia A foi confirmada em sete dos oito pacientes, sendo um caso grave. Uma mulher com suspeita de ser portadora sintomática de hemofilia foi identificada com a doença de von Willebrand 2N (DvW-2N) após a aplicação do painel, onde se verificou ser homozigótica de pArg854Gln, que é uma variante do Fator de von Willebrand (FvW) mais comum na mutação de DvW-2N.[8]

A hemofilia A e a Doença de von Willebrand podem muitas vezes ser confundidas por apresentarem deficiência do FVIII. Em função disso, diversos estudos vêm sendo desenvolvidos ao longo dos anos em busca de métodos que ofereçam resultados com maior sensibilidade e especificidade. O NSG é um método que vem sendo empregado no diagnóstico de doenças em várias áreas da saúde, como na análise de genes relacionados a diversos tipos de câncer e, mais recentemente, em patologias hematológicas.[22] Os estudos descritos[8,11] demostraram que, com a técnica de NGS, é possível realizar um diagnóstico da doença no âmbito molecular em todos os indivíduos e a identificação de novas mutações.

A técnica de NGS apresenta alta precisão, alta sensibilidade, além de permitir o rápido sequenciamento de grandes sequências de pares de bases de DNA abrangendo genomas inteiros, refletindo na identificação de novas mutações, detecção de grandes mutações de inserção, deleção e outros rearranjos. Outras técnicas de sequenciamento fazem a leitura de um número restrito de pares de base em um tempo maior comparados ao NGS, que pode ler um painel com muitos genes em algumas horas; o custo-benefício do NGS acaba sendo maior, visto que se pode analisar um painel inteiro de genes de forma simultânea diferente de outros sequenciadores.[23,24]

Outra vantagem é a capacidade de escolher os genes alvos para formação do painel, diferente de alguns sequenciadores que já vêm com a matriz genética pronta. No caso de hemofilias, esta caracterização poderia potencialmente ajudar a prever a probabilidade de desenvolvimento de inibidores e antecipar a resposta à indução de tolerância imunológica. O NGS possibilita a análise simultânea de vários genes envolvidos em IBCDs, mostrando-se uma técnica sensível e eficiente no diagnóstico molecular, podendo auxiliar principalmente no diagnóstico pré-natal e no aconselhamento genético.[23,24]

Categoria 3: Método modificado

Milos et al.[12] desenvolveram um teste modificado da análise de tromboplastina parcial ativada (TTPa) em onda quantitativa, através de três parâmetros quantitativos (delta, ratio-1 e ratio-2) comparando-o com a atividade do fator VIII, com o objetivo de comparar e quantificar pacientes com o fenótipo clínico grave e não grave com os parâmetros do TTPa em onda, além de verificar a associação destes valores com eventos hemorrágicos. Participaram desse estudo 81 pacientes com a doença Hemofilia A (classificados em

37 grave, 7 moderada e 37 leve). As análises foram feitas por coagulômetros fotópticos modernos que recolheram os dados durante toda a formação dos coágulos usando o programa MedCald, versão 9.3.2.0 para Windows *software* Mariakerd Bélgica para análise estatística.

O TTPa modificado é um método que serve para avaliar a hemostasia, com o benefício da análise em forma de onda quantitativa, e no qual se tem a comparação dos resultados obtidos em várias fases; portanto, o teste mostra informações sobre o processo de coagulação em situações específicas. Essa onda de forma quantitativa é uma ferramenta de laboratório para avaliação de coagulações globais, já que obteve resultados superiores aos métodos que são considerados padrões nos laboratórios. Outra importância desse teste é a simplicidade, além do custo-benefício da medição de rotina, tornando o TTPa uma ferramenta tanto prática como promissora para avalição de coagulação nos pacientes com hemofilia A. Esse estudo obteve resultados em diferentes formas de curvas de reação no TTPa dos pacientes.[12,25]

Categoria 4: Potencialização de sensibilidade

O Bethesda modificado é um método diagnóstico considerado o padrão ouro para detecção de anticorpos inibidores do FVIII, porém apresenta baixa sensibilidade, havendo a necessidade de se desenvolverem técnicas mais sensíveis, como os imunoensaios.[27]

Irigoyen et al.[14] buscaram comparar a técnica imunológica da Citometria de Fluxo (CF) com o Bethesda modificado e com a técnica de ELISA. Esses métodos analisam a presença de anticorpos inibidores em pacientes com hemofilia A grave, após o tratamento para reposição de fator VIII (FVIII). Os testes foram realizados antes e após a administração da terapia de reposição de FVIII, participando do estudo trinta pacientes hemofílicos, sendo que 13 foram detectados com anticorpos inibidores pelo método de Bethesda modificado. Os pacientes que apresentavam anticorpos inibidores tiveram resultado positivo nos métodos Bethesda modificado, ELISA e CF, porém seis pacientes apresentaram resultado fracamente positivo em apenas um teste (CF ou ELISA). Essa positividade está relacionada com a presença de anticorpos não inibidores.

Miller et al.[15] fizeram uma comparação entre os testes: Ensaio Nijmegen-Bethesda (NBA), Ensaio de Bethesda Cromogênico (CBA) e Imunoensaio de Fluorescência (FLI) baseados no coágulo para a medição dos inibidores de FVII. Os indivíduos que participaram do estudo apresentavam hemofilia A e Hemofilia B, com fatores VIII e IX baixos, respectivamente, em centros de tratamentos para a doença.

Entre os espécimes com NBA positivo e CBA negativo, 58,1% eram FLI negativos, 12,9% tinham evidência de anticoagulante lúpico e 35,5% tinham inibição não dependente do tempo. CBA e FLI foram positivos em 72,4% e 100% de 1,0-1,9 espécimes NBU e 43,1% e 50,0% de 0,5-0,9 espécimes NBU. A FLI detectou anticorpos em 98,0% de CBA-positivos e 81,6% de NBA positivos. Entre os pacientes previamente positivos com 0,5-1,9 NBU, 7/25 (28%) não foram CBA ou FLI positivo. FLI foi positivo em 36/169 NBU-negativo espécimes (21,3%). Quando comparados todos os métodos, mostram-se resultados tanto para o NBA, CBA, e FLI positivos para o NBU, até 100% dos espécimes positivos para o CBA, (98,5%) FLI positivos para NBU (72,4%) positivos para CBA e 100% foram FLI positivos. No caso do CBA e FLI foram considerados positivos em 43,1% e 50% dos espécimes. Apenas 4% dos espécimes apresentaram discordância entre os resultados da NBA e CBA. O FLI detectou anticorpos em 98,0% dos espécimes CBA-positivos, mas apenas 81,6% dos espécimes NBA-positivos. A especificidade do FVIII não foi demonstrada em 26% dos inibidores menor em 2,0 NBU detectados no NBA alterado.[15]

Kahle et al.[16] desenvolveram um estudo para identificação de epítopos de anticorpos anti-FVIII em pacientes com hemofilia A, através de fagos, com ligações confirmadas pelo ELISA. Três etapas foram seguidas: seleção de peptídeos específicos de anticorpos de apresentação de fagos; identificação de resíduos de peptídeos de ligação e anticorpos essenciais por análise mutacional, e resíduos peptídeos essenciais ao FVIII e sua verificação. Bibliotecas de peptídeos apresentadas por fagos (PDPLs) foram pesquisadas para o anticorpo monoclonal murino (mAb) 2-76. O mapeamento de epítopos detalhado mostrou sítios de ligação nos domínios A2, A3, C2, uma preferência para os domínios A2 e C2, podendo esses ligantes peptídicos específicos ser uma abordagem para identificação de sítios antigênicos em FVIII. A análise resultou na predição de dois epítopos dentro da região A2 (484-508), que contém o epítopo funcional, e o mapeamento identificou os resíduos R489, V495 e/ou F501 como essenciais para a ligação de mAb 2-76. Os fagos específicos de anticorpo apresentam ligantes em que peptídeos imitam os locais de ligação ao anticorpo. Os resultados apresentados mostraram que esses epítopos de anticorpos específicos para o FVIII são vistos por meio de seleção de ligantes peptídeos específicos de anticorpos.

A concordância nos resultados da CF com o Bethesda modificado e com os resultados do método de ELISA nos pacientes torna a CF uma alternativa na detecção e quantificação de anticorpos anti-FVIII de baixo nível em pacientes hemofílicos, apresentando uma sensibilidade alta na avaliação de pacientes com baixa resposta (<5BU mL),[14] visto que o método Bethesda modificado apresenta como ponto negativo uma baixa sensibilidade na detecção e quantificação desses anticorpos e uma elevada variabilidade entre

laboratórios.[27] A CF é uma técnica de realização rápida e fácil, seus resultados podem ser obtidos em algumas horas e utiliza uma pequena quantidade de amostra do paciente, podendo ser realizada no plasma ou soro. Porém, o aparelho de CF é caro, devendo-se avaliar o custo-benefício dessa técnica.[28]

Comparativamente, a técnica de apresentação de fagos precisa ser melhorada, pois é necessário utilizar um grande tempo para a sua execução, porém a capacidade de identificar ligantes de anticorpo ajudará a desenvolver novas ferramentas de diagnósticos e terapia para as hemofilias, auxiliando em uma compreensão melhor da resposta imunitária de FVIII.[16,29] A FLI é capaz de realizar a análise de diversas amostras em um tempo curto, apresenta sensibilidade elevada e boa especificidade com baixo custo, em comparação com métodos cromatográficos.[15,30]

A detecção dos inibidores é muito importante para o acompanhamento do tratamento feito através da reposição dos fatores deficientes, porém algumas dessas técnicas necessitam ser melhoradas, para futuramente poderem ser utilizadas como forma de identificação dos epítopos presentes nos anticorpos inibidores e neutralização dos mesmos. A análise molecular de determinados genes ao mesmo tempo permite entender as alterações presentes nesses genes e traçar um perfil genótipo-fenótipo de pacientes com hemofilia, diferenciando-a das demais coagulopatias e confirmando o diagnóstico do paciente.[24]

Essas novas técnicas diagnósticas têm demonstrado grande importância, visto que a presença de anticorpos inibidores dos fatores acaba por dificultar o tratamento dos hemofílicos, o que pode até causar complicações significantes. Isso influencia principalmente na realidade da saúde brasileira, já que, de acordo com os dados publicados em 2015 pela Federação Mundial de Hemofilia, dentre os 111 países pesquisados, o Brasil tem a quarta maior população de pacientes com hemofilia, depois apenas dos Estados Unidos, Índia e China.[26] Portanto, a grande maioria dos trabalhos buscou a detecção desses anticorpos, e a possível adoção destes novos métodos no Brasil pode contribuir para o desenvolvimento de um diagnóstico mais preciso, o que reflete na importância destes para o tratamento, e, consequentemente, na qualidade de vida dos pacientes.

CONCLUSÃO

Os métodos padrão de diagnósticos laboratoriais atualmente utilizados para a detecção e acompanhamento das hemofilias proporcionam resultados limitados devido às dificuldades como quantificação de baixos níveis de anticorpos inibidores e diferenciação da hemofilia com as demais coagulopatias. As novas técnicas estão sendo testadas e melhoradas para realizar com maior especificidade funções como: a quantificação do fator VIII, identificação da presença e diferenciação de anticorpos inibidores; anticorpos não inibidores; análise dos genes F8 (HA) e F9 (HB) junto com outros genes da hemostasia, para detecção de deleções, inserções e mutações conhecidas ou novas; esses resultados podem ser correlacionados com outros testes para melhor definição dos fenótipos clínicos da doença. Com a aplicação dessas novas técnicas será possível realizar um diagnóstico mais preciso das hemofilias, para posteriormente auxiliarem na escolha da melhor forma de tratamento, monitorização e prevenção dos agravos associados à evolução da patologia.

Abstract

Hemophilia is a hereditary coagulopathy linked to the X chromosome, caused by the deficiency of factors VIII (hemophilia A) and IX (hemophilia B). This disease affects about 1: 10.000 live male births in hemophilia A and 1: 40.000 in hemophilia B in the world. This study aimed to evaluate current methods and new laboratory diagnostic methods being tested for the detection and follow-up of patients with hemophilia. An integrative review of the literature was carried out by searching indexed articles using the PubMed and SciELO data platforms. From the research carried out, only 8 articles were selected, categorized in: Innovative Technique; Molecular diagnosis; Modified method and Sensitivity enhancement. With these new techniques will be possible with greater specificity factor VIII quantification, identification and differentiation of non-inhibitory antibody inhibitor antibodies; analysis of the FVIII, FIX and other genes of hemostasis by Flow Cytometry techniques and the Surface Plasmon Resonance Biosensor; detection of deletions, insertions and mutations known or new through New Generation Sequencing, these results being correlated with other tests to better define the clinical phenotypes of the disease.

Palavras-chave

Hemophilia; Diagnosis; Innovation

REFERÊNCIAS

1. Saito H, Matsushita T, Kojima T. Historical perspective and future direction of coagulation research. J Thromb Haemost. 2011 Jul;9 Suppl 1:352-63. doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04362.x.
2. Seo JY, Jang MA, Kim HJ, Lee KO, Kim SH, Kim HJ. Sequence variation data of F8 and F9 genes in functionally validated control individuals: implications on the molecular diagnosis of hemophilia. Blood Res. 2013 Sep;48(3):206-10. doi: 10.5045/br.2013.48.3.206.
3. Ceresetto JM, Duboscq C, Fondevila C, Tezanos PM. Hemofilia adquirida (inhibidor adquirido del factor VIII). Medicina (B. Aires). 2015 Ago;75(4):231-8.
4. Mansouritorghabeh H. Clinical and Laboratory Approaches to Hemophilia A. Iran J Med Sci. 2015 May;40(3):194-205.
5. Batsuli G, Deng W, Healey JF, Parker ET, Baldwin WH, Cox C, et al. High-affinity, noninhibitory pathogenic C1 domain antibodies are present in patients with hemophilia A and inhibitors. Blood. 2016 Oct 20;128(16):2055-2067. doi: 10.1182/blood-2016-02-701805.
6. Silva TPS. Avaliação da qualidade de vida relacionada à saúde em pacientes com hemofilias A e B atendidos na fundação HEMOMINAS - Minas Gerais, Brasil. Dissertação [Mestrado em Saúde Coletiva, Área de concentração: Epidemiologia] -Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte, 2015.
7. Bonar RA, Favaloro EJ, Marsden K. External Quality Assessment of Factor VIII Inhibitor Assays. Semin Thromb Hemost. 2013 Apr;39 (3):320-6. doi: 10.1055/s-0033-1334464.

8. Bastida JM, Del Rey M, Lozano ML, Sarasquete ME, Benito R, Fontecha ME, et al. Design and application of a 23-gene panel by next-generation sequencing for inherited coagulation bleeding disorders. Haemophilia. 2016 Jul;22(4):590-7. doi: 10.1111/hae.12908.
9. De Brasi C, El-Maarri O, Perry DJ, Oldenburg J, Pezeshkpoor B, Goodeve A. Genetic testing in bleeding disorders. Haemophilia. 2014 May;20 Suppl 4:54-8. doi: 10.1111/hae.12409.
10. Kocot C, Schindler AR, Le Blanc A, Schmalenberg M, Miesbach W, Spannagl M, et al. Biomimetic biosensor to distinguish between inhibitory and non-inhibitory factor VIII antibodies. Anal Bioanal Chem. 2015 Jul;407(19):5685-93. doi: 10.1007/s00216-015-8751-x.
11. Lyu C, Xue F, Liu X, Liu W, Fu R, Sun T, et al. Identification of mutations in the F8 and F9 gene in families with haemophilia using targeted high-throughput sequencing. Haemophilia. 2016 Sep; 22(5):e427-34. doi: 10.1111/hae.12924.
12. Milos M, Coen Herak D, Zupancic-Salek S, Zadro R. New quantitative aPTT waveform analysis and its application in laboratory management of haemophilia A patients. Haemophilia. 2014 Nov;20(6):898-904. doi: 10.1111/hae.12492.
13. Hausammann S, Vogel M, Kremer Hovinga JA, Lacroix-Desmazes S, Stadler BM, Horn MP. Designed Ankyrin Repeat Proteins: A New Approach to Mimic Complex Antigens for Diagnostic Purposes? PLoS One. 2013 Apr 23;8(4):e60688. doi: 10.1371/journal. pone. 0060688.
14. Irigoyen MB, Primiani L, Felippo M, Candela M, Bianco RP, De Bracco MM, et al. A flow cytometry evaluation of anti-FVIII antibodies: correlation with ELISA and Bethesda assay. Haemophilia. 2011 Mar; 17(2):267-74. doi: 10.1111/j.1365-2516. 2010.02406.x.
15. Miller CH, Rice AS, Boylan B, Shapiro AD, Lentz SR, Wicklund BM, et al. Comparison of clot-based, chromogenic and fluorescence assays for measurement of factor VIII inhibitors in the US Hemophilia Inhibitor Research Study. J Thromb Haemost. 2013 Jul;11(7):1300-9. doi: 10.1111/jth.12259.
16. Kahle J, Orlowski A, Stichel D, Becker-Peters K, Kabiri A, Healey JF, et al. Epitope mapping via selection of anti-FVIII antibody-specific phage-presented peptide ligands that mimic the antibody binding sites. Thromb Haemost. 2015 Feb;113(2):396-405. doi: 10.1160/TH14-01-0101.
17. Janbain M, Leissinger CA, Kruse-Jarres R. Acquired hemophilia A: emerging treatment options. J Blood Med. 2015 May 8;6:143-50. doi: 10.2147/JBM.S77332. eCollection 2015.
18. Grosbois SS, Brionne MF, De Longcamp AL, Gautier P, Kaveri VS, Borel-Derlon A, et al. Hydrolysis of factor VIII mediated by catalytic antibodies occurs in haemophilia A patients with or without factor VIII inhibitors. Haemophilia. 2013 Mar;19(2):322-9. doi: 10.1111/hae.12067.
19. Pluckthun A. Designed Ankyrin Repeat Proteins (DARPins): Binding Proteins for Research, Diagnostics, and Therapy. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2015;55:489-511. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010611-134654.
20. Duncan E, Collecutt M, Street A. Nijmegen-Bethesda Assay to Measure Factor VIII Inhibitors. Methods Mol Biol. 2013;992:321-33. doi: 10.1007/978-1-62703-339-8_24.
21. Damborsky P, Svitel J, Katrlik J. Optical biosensors. Essays Biochem. 2016 Jun 30;60(1):91-100. doi: 10.1042/EBC20150010.
22. Liang J, She Y, Zhu J, Wei L, Zhang L, Gao L, et al. Development and validation of an ultra-high sensitive next-generation sequencing assay for molecular diagnosis of clinical oncology. Int J Oncol. 2016 Nov;49(5):2088-2104. doi: 10.3892/ijo.2016.3707.
23. Pezeshkpoor B, Zimmer N, Marquardt N, Nanda I, Haaf T, Budde U, et al. Deep intronic 'mutations' cause hemophilia A: application of next generation sequencing in patients without detectable mutation in F8 cDNA. J Thromb Haemost. 2013 Sep;11(9):1679-87. doi: 10.1111/jth.12339.
24. Vijay P, Mcintyre AB, Mason CE, Greenfield JP, Li S. Clinical Genomics: Challenges and Opportunities. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2016;26(2):97-113. doi: 10.1615/Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2016015724.
25. Matsumoto T, Nogami K, Shima M. A combined approach using global coagulation assays quickly differentiates coagulation disorders with prolonged aPTT and low levels of FVIII activity. Int J Hematol. 2017 Feb;105(2):174-183. doi: 10.1007/s12185-016-2108-x.
26. World Federation of Hemophilia. Annual Global Survey 2015; 2016. pp. 68. [acesso em 03 jan 2017]. Disponível em: http://www1.wfh.org/publications/files/pdf-1669.pdf.
27. Verbruggen B, Dardikh M, Polenewen R, Van Duren C, Meijer P. The factor VIII inhibitor assays can be standardized: results of a workshop. J Thromb Haemost. 2011 Oct;9(10):2003-8. doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04479.x.
28. Moskalensky AE, Chernyshev AV, Yurkin MA, Nekrasov VM, Polshchitsin AA, Parks DR, et al. Dynamic quantification of antigen molecules with flow cytometry. J Immunol Methods. 2015 Mar; 418:66-74. doi: 10.1016/j.jim.2015.02.001.
29. Tan Y, Tian T, Liu W, Zhu Z, J Yang C. Advance in phage display technology for bioanalysis. Biotechnol J. 2016 Jun;11(6):732-45. doi: 10.1002/biot.201500458.
30. Zakarija A, Harris S, Rademaker AW, Brewer J, Krudysz-Amblo J, Butenas S, et al.Alloantibodies to factor VIII in haemophilia. Haemophilia. 2011 Jul;17(4):636-40. doi: 10.1111/j.1365-2516. 2010.02468.x.

Correspondência
Danielle Cristinne Azevedo Feio
Avenida Visconde de Sousa Franco, N° 660
66053-000 – Belém, PA, Brasil
e-mail: daniellefeio@yahoo.com.br

Deficiência de vitamina D (250H) e seu impacto na qualidade de vida: uma revisão de literatura

Deficiency of vitamin D (250H) and its impact on the quality of life: a literature review

Daniela Barbosa Kratz[1]
Giancarlos Soares e Silva[2]
Adrielli Tenfen[3]

Resumo

A população mundial atualmente possui maior expectativa de vida, e esse fato, aliado a baixa natalidade, mortalidade e o grande avanço cientifico e tecnológico ocorrido nas últimas décadas se tornou um fenômeno mundial. E com ele o aparecimento de novas doenças, deficiências e preocupações com a saúde humana. Evidências recentes demonstram que a insuficiência da vitamina D pode estar relacionada com o aparecimento das doenças crônicas. A vitamina D tem sido alvo de um número crescente de pesquisas nos últimos anos, demonstrando sua função além do metabolismo do cálcio e da formação óssea, incluindo sua interação com o sistema imunológico, o que não é uma surpresa, tendo em vista a expressão do receptor de vitamina D em uma ampla variedade de tecidos corporais como cérebro, coração, pele, intestino, gônadas, próstata, mamas e células imunológicas, além de ossos, rins e paratireoides. Estes trabalhos mostram que a vitamina D, em seu nível suficiente, vem sendo efetiva em prevenções de doenças como neoplasias, doenças autoimunes, e ainda como uma possível moduladora de resposta imunológica. Esses achados se tornam promissores para novas pesquisas tanto para o entendimento dos mecanismos destas doenças quanto para se tornar uma coadjuvante no tratamento das doenças crônicas.

Palavras-chave

Vitamina D; Deficiência; Qualidade de vida

INTRODUÇÃO

Considerando o aumento da expectativa de vida no mundo, o número de idosos tende a aumentar consideravelmente nos próximos anos, e com ele o aparecimento de novas doenças, deficiências e preocupações com a saúde humana. O Brasil atingiu em 2016 a marca de 22,3 milhões de pessoas com idade acima de 60 anos.(1)

Nos últimos anos, a população brasileira manteve a tendência de envelhecimento, aumentando cerca de 4,8 milhões de idosos desde 2012, superando os 30,2 milhões em 2017, segundo dados do IBGE.(2)

O envelhecimento humano é um processo natural, dinâmico e progressivo, no qual ocorrem alterações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e psicológicas que determinam a perda progressiva da capacidade de adaptação do indivíduo ao meio ambiente, ocasionando maior vulnerabilidade e incidência de processos patológicos, que terminam por levá-lo à morte.(3)

O processo de envelhecimento também está intimamente ligado à manutenção ou não da autonomia em relação ao desempenho das atividades diárias, como, por exemplo, a rotina do trabalho e atividades físicas.

O envelhecimento caracteriza-se pela dificuldade de manter a homeostasia em condições de sobrecarga funcional. Esta capacidade funcional surge como um novo paradigma de saúde, particularmente relevante para o idoso.(4)

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), as doenças crônicas são responsáveis por 70% de todas as mortes no mundo. Isso acarreta um problema de ordem global de saúde, gerando perda da qualidade de vida, mortes prematuras e grandes impactos econômicos e sociais em vários países.(5)

A vitamina D tem sido alvo de um número crescente de pesquisas nos últimos anos, demonstrando sua função além do metabolismo do cálcio e da formação óssea, incluindo sua interação com o sistema imunológico, o que

[1]*Biomédica / Uniasselvi.*
[2]*Farmacêutico / UFRGS, Porto Alegre - RS, Brasil.*
[3]*Dra Instituto Educacional Santa Catarina - Jaraguá do Sul - SC, Brasil*

Instituição: Uniasselvi - Pós-Graduação.

Recebido em 20/03/2018
Artigo aprovado em 23/08/2018
DOI: 110.21877/2448-3877.201800686

não é uma surpresa, tendo em vista a expressão do receptor de vitamina D em uma ampla variedade de tecidos corporais como cérebro, coração, pele, intestino, gônadas, próstata, mamas e células imunológicas, além de ossos, rins e sua relação com doenças autoimunes.[6,7]

Partindo destas informações, faz-se necessário uma revisão de literatura para acompanhar novos dados científicos relacionando a hipovitaminose D *versus* qualidade de vida e sua relação com doenças crônicas.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho consiste em uma revisão de literatura, obtida por meio de pesquisa de artigos científicos, mediante busca na Biblioteca Científica Eletrônica Virtual (SciELO) e PubMed no período de 2012 até 2018.

Os critérios utilizados para a escolha dos artigos selecionados foram a abordagem do assunto em questão, a importância da vitamina D (25OH) e suas relevâncias e associações clínicas.

A pesquisa nos bancos de dados realizou-se por intermédio de palavras-chaves, tais como vitamina D, deficiência de vitamina D e doenças crônicas.

A pesquisa incluiu banco de dados em inglês e espanhol, as mesmas palavras-chave descritas acima foram traduzidas para este idioma.

REVISÃO TEÓRICA

Fisiologia da vitamina D

A vitamina D é produzida *in vivo* principalmente através da radiação solar ultravioleta B, sendo que a alimentação apenas supre em torno de 20% das necessidades essenciais do organismo,[8] por meio de colecalciferol ou vitamina D3 e a ergocalciferol ou D2 vegetal. Contudo, nos países com boa exposição solar, 90% a 95% da vitamina D pode ser obtida através da radiação solar.[9]

A pele produz mais de 90% da vitamina D necessária. Esta produção depende do comprimento de onda da radiação ultravioleta (290-315nm) e do número de fótons absorvidos,[8] pelo que fatores como a reduzida exposição aos raios UVB, o aumento da pigmentação da pele, o uso de filtros solares e o ângulo da luz solar que atinge a superfície da Terra (ângulo de Zénite) afetam este processo.[5]

A pigmentação da pele, estação do ano, exposição ao sol e ingestão de cálcio influenciam nas concentrações de vitamina D3. Ela também exerce uma importante função na regulação da homeostasia mineral por meio de sua ação nos ossos, nas glândulas paratireoides, nos rins e no intestino.[10]

Nesses tecidos, sua forma ativa (1,25-OH2D) atua ligando-se a um receptor nuclear específico, pertencente à família de receptores dos hormônios esteroides e tireoidianos. Contudo, esse receptor, bem como a enzima que transforma a 25-OHD na forma ativa da vitamina D, foi identificado em outros tecidos.[5]

A vitamina D está inserida em vários processos metabólicos e sinalizadores moleculares, e sua deficiência poderá dificultar as funcionalidades celulares, ou ocasionando lesões de forma crônica, facilitando o aparecimento de doenças de amplos espectros, inclusive a forma crônica.[11]

Hipovitaminose D

A hipovitaminose D pode ser correlacionada com as diferentes populações, onde a exposição UVB reduzida é um dos principais fatores de risco para hipovitaminose D. Dentre as correlações se destacam a estação do ano e os fatores culturais; sobre exposição solar, um exemplo é a alta prevalência de hipovitaminose D em populações com hábito cultural do uso de roupas cobrindo o corpo todo.[5]

Em países onde a exposição ao sol é considerada normal, o fator desencadeante desta hipovitaminose pode estar relacionado com o consumo diminuído na dieta. Já em países com alto grau de obesidade, ocorre uma diminuição da biodisponibilidade da vitamina D, também acarretando a sua hipovitaminose. Ainda, quanto maior a pigmentação da pele maior é a concentração de melanina, que atua como barreira para a radiação UVB, de onde provém grande parte da vitamina D.[8-12]

A vitamina D afeta o crescimento e diferenciação celular de várias classes, como macrófagos, células dendríticas e linfócitos T e B. Seu efeito imunomodulador tem ligação com doenças autoimunes, como artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico, *diabetes mellitus* tipo 1, doença inflamatória do intestino e esclerose múltipla. Ainda, pacientes com baixos níveis de vitamina D estão associados a níveis aumentados de inflamação e carga oxidativa.[8-12]

A Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia atualizaram os valores ideais da 25(OH) D para a população brasileira, baseando na literatura atual, classificando de acordo com a idade e as características clínicas individuais de cada paciente.

Com isso, os novos valores de referência laboratorial para os níveis de vitamina D 25 (OH) sugerem que acima de 20 ng/mL é o valor desejável para população saudável (até 60 anos), e entre 30 ng/mL e 60 ng/mL é o valor recomendado para grupos de risco como: idosos, gestantes, lactantes, pacientes com raquitismo/osteomalácia, osteoporose, pacientes com história de quedas e fraturas, causas secundárias de osteoporose (doenças e medicações), hiperparatiroidismo, doenças infamatórias, doenças

autoimunes, doença renal crônica e síndromes de má absorção (clínicas ou pós-cirúrgicas) e acima de 100 ng/mL: risco de toxicidade e hipercalcemia[13]

Como citado anteriormente, a vitamina D está presente na maioria das células e tecidos do corpo, sendo uma das mais potentes reguladoras de crescimento celular tanto em células normais como em cancerosas.[14]

Na Tabela 1 estão as principais causas da hipovitaminose D.[14]

Tabela 1 - Principais causas da hipovitaminose D [14]

Causas	Exemplo
Síntese reduzida na pele	Protetor solar, pigmento da pele, estação, latitude, período do dia, idade, enxertos de pele
Absorção reduzida	Fibrose cística, doença celíaca, doença de Whipple, doença de Crohn, by-pass gástrico, medicamentos que reduzem a absorção de colesterol
Sequestro aumentado	Obesidade
Catabolismo aumentado	Anticonvulsionante, glicocorticoide, tratamento antirretroviral altamente ativo, e alguns imunossupressores
Amamentando	
Síntese de 25-hidroxivitamina D diminuída	Insuficiência hepática
Perda urinária de 25-hidroxivitamina D	Proteinúria nefrótica
Síntese de 1,25-hidroxivitamina D diminuída	Insuficiência renal crônica
Desordens hereditárias	Mutações genéticas que causam raquitismo, ou resistência de vitamina D
Desordens adquiridas	Osteomalácia (tumor-induzido), hiperparatiroidismo primário, hipertireoidismo, desordens granutomalosas como sarcoidose, tuberculose, e alguns linfomas.

Qualidade de vida

A qualidade de vida ganhou preocupação nas últimas décadas devido ao aumento da expectativa de vida da população mundial.[15]

O grupo WHOQOL - *World Health Organization Quality of Life Group* (Grupo de Qualidade de Vida da Organização Mundial de Saúde), alega que a qualidade de vida é a "percepção que o indivíduo sabe sobre sua posição na vida, no contexto da cultura e no sistema de valores em que se vive, e a relação com seus objetivos e expectativas, padrões e preocupações; desta forma, esta percepção do indivíduo é afetada pela sua saúde física, seu estado psicológico, suas crenças pessoais, sua interação com o meio ambiente e interações sociais".[16]

O interesse pela mensuração da qualidade de vida vem sendo forte nas práticas assistenciais como nas políticas públicas, com ênfase nos campos de prevenção de doenças e promoção da saúde.[17]

Partindo disso, este artigo de revisão analisou os aspectos relacionados à deficiência de vitamina D (25OH), qualidade de vida e sua relação com doenças.

RESULTADOS

Vitamina D e sua relação com doenças

Doenças autoimunes

Vários estudos têm apoiado o fato de que a deficiência de Vitamina D atua não apenas como um fator predisponente para o desenvolvimento de artrite reumatoide e do lúpus eritematoso sistêmico, mas também como um intensificador da gravidade e atividade das doenças autoimunes.[18,19]

Um estudo randomizado controlado por placebo, realizado em 2013, concluiu que a ingestão de vitamina D (2000 UI/dia por 12 meses) em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, melhorou os níveis de marcadores inflamatórios e hemostáticos e reduziu a atividade da doença. Os autores concluíram que o efeito benéfico da vitamina D no lúpus eritematoso sistêmico pode ser devido à sua capacidade de expandir as células T reguladoras e à sua capacidade de reduzir a frequência de células Th1, células Th17, linfócitos B e autoanticorpos.[20]

Já na artrite reumatoide, o tratamento com vitamina D exibiu uma resposta anti-inflamatória pela regulação negativa de IL-6 e TNF-β e através de uma diferenciação aumentada de células T e B reguladoras. Além disso, foi demonstrado que a vitamina D inibiu a osteoclastogênese e a reabsorção óssea na artrite reumatoide. Estudos epidemiológicos sugerem que a deficiência de vitamina D é comum em pacientes com artrite reumatoide. No entanto, sua relação com a atividade da doença não é clara. Relatos sobre a influência da suplementação de vitamina D na AR não são consistentes. Enquanto dois estudos abertos cegos observaram um efeito significativo da repleção de vitamina D no alívio da dor e atividade da doença, outros não demonstraram nenhum papel da suplementação de vitamina D sobre os parâmetros clínicos de pacientes com artrite reumatoide.[21,22]

Em um estudo feito no Reino Unido, os pesquisadores utilizaram tecnologia de sequenciamento genético para criar um mapa das ligações dos receptores de vitamina D pelo genoma. Esse receptor é uma proteína ativada pela própria vitamina D, que, por sua vez, liga-se ao DNA e influencia quais proteínas são feitas a partir do código genético. Foram identificados 2.776 pontos de ligação para o receptor por toda a extensão do genoma humano e verificaram que esses locais estão concentrados anormalmente próximos a genes associados à susceptibilidade a problemas no sistema imunológico. O trabalho também mostrou que a vitamina D tem um efeito importante na atividade de 229 genes, entre os quais o IRF8, que já foi associado com esclerose múltipla, e o PTPN2, ligado a diabetes *mellitus* do tipo 1 e com a doença de Crohn, que atinge o intestino.[23]

Entretanto, a ação imunomodulatória da vitamina D ocorre por sua presença nas células imunes em proliferação e a capacidade das células imunológicas de metabolizar a vitamina D; ainda, a última função garante uma alta concentração fisiológica de vitamina D em um ambiente linfoide local, que promove sua ação específica e limita qualquer efeito sistêmico indesejável relacionado à alta concentração de cálcio e reabsorção óssea. Desta forma, a vitamina D produzida localmente atua sobre as células imunes de forma intracrina, autócrina e/ou parácrina, afetando múltiplos componentes das vias de imunidade inata e adaptativa.[24]

Vitamina D e Câncer

Cedric e Frank Garland demonstraram a primeira ligação entre a deficiência de vitamina D e alguns tipos de câncer nos anos 1980, quando eles notaram que populações em latitudes mais elevadas (com menos luz solar disponível) eram mais propensas a ter deficiência de vitamina D, e, consequentemente, apresentavam taxas mais altas de câncer de cólon. Estudos subsequentes dos dois irmãos e de outros pesquisadores revelaram conexões entre os níveis de vitamina D e vários outros tipos de câncer, incluindo mama, pulmão e bexiga, além de AVCs mais graves, problemas renais e Mal de Parkinson. Os pesquisadores queriam determinar qual o nível sanguíneo de vitamina D seria necessário para reduzir eficazmente o risco de câncer. O marcador de vitamina D usado foi a 25-hidroxivitamina D (25OH). Mulheres com concentrações de (25OH) de 40 nanogramas por mililitro (ng/mL) ou superiores apresentaram uma redução de 67% no risco de câncer em relação às mulheres com níveis de 20 ng/mL ou menos.[25]

Semelhante aos estudos experimentais, a maioria dos estudos epidemiológicos sugere um efeito benéfico da vitamina D no risco de câncer, incidência e mortalidade. Dados da análise conjunta de ensaios clínicos de vitamina D (25OH) $\geq$ 40 ng/mL estão associadas a uma redução significativa no risco de muitos cânceres invasivos.[26]

Da mesma forma, outro estudo de corte prospectivo afirmou que os níveis de vitamina D (25OH) $\geq$ 30 ng/mL estão associados a um menor risco de câncer relacionado ao tabaco em fumantes.[27]

Ainda, em ensaios observacionais de câncer de mama, os níveis séricos de vitamina D (25OH) foram positivamente associados com taxas mais baixas de câncer de mama incidente, particularmente entre mulheres na pós-menopausa. Estes níveis foram inversamente correlacionados com uma forma agressiva da doença em mulheres na fase de pré e pós-menopausa. Além disso, estudos de metanálises mostraram melhor sobrevida do câncer de mama com alto *status* sérico de vitamina D (25OH).[28-30]

Vitamina D e AVC

Baixos níveis de vitamina D também têm sido associados com lesões neurovasculares, lesões dos vasos sanguíneos principais, que irrigam o cérebro, tronco cerebral e a medula espinhal superior. Um exemplo disso foi uma pesquisa realizada com 96 pacientes com AVC, entre 2013 e 2014, avaliando o nível de vitamina D (25OH). No geral, os pacientes que tinham níveis baixos de vitamina D definidos com menos de 30 nanogramas por mililitro (ng/mL) tiveram áreas de tecido morto resultante da obstrução do fornecimento de sangue, cerca de duas vezes maiores em comparação com pacientes com níveis normais de vitamina D. Essa associação foi semelhante entre os pacientes que sofreram acidentes vasculares cerebrais lacunares (nos quais são afetadas as pequenas artérias do cérebro) e pacientes com acidentes vasculares cerebrais não lacunares (como os causados por doença carótida ou por um coágulo que teve origem em outro local do corpo). Os autores concluíram que para cada 10 ng/mL a menos no nível de vitamina D, a chance de recuperação saudável nos três meses após o AVC diminui quase pela metade, independentemente da idade do paciente ou da gravidade inicial do evento.[31]

Em contrapartida, um grande estudo publicado em 2015 com o objetivo de pesquisar a associação entre mortalidade cardiovascular, acidente vascular cerebral e infarto agudo do miocárdio e os níveis séricos de vitamina D (25OH), realizado com 247.574 pacientes, revelou resultados conflitantes. O estudo confirma que há de fato uma relação nas taxas de mortalidade tanto nos baixos níveis quanto nos níveis altos de vitamina D (25OH) e relata que, se o nível da vitamina D (25OH) estiver abaixo de 50 ou acima de 100 nanogramas por litro, existe um risco maior com a mortalidade, principalmente no caso de AVC, conclui o estudo.[32]

DISCUSSÃO

Foram encontrados 15 artigos publicados nos últimos anos relacionando níveis séricos de vitamina D (25OH) e sua relação com doenças.

Dos estudos encontrados, a maioria mostra a relação entre vitamina D e doenças crônicas, como, por exemplo, o lúpus eritematoso sistêmico e doenças cardiovasculares. Entretanto, existem artigos que relacionam a vitamina D como moduladora de respostas metabólicas e com relação intensa com o sistema imunológico. Neste último, como componente fundamental na regulação e controle na imunidade inata e adaptativa, o que justifica os resultados dos estudos apresentados relacionando a vitamina D com doenças autoimunes e neoplasias.

Os estudos ainda ressaltam a vitamina D envolvida no processo de divisão celular participando praticamente em todas as fases do ciclo celular, sugerindo uma justificativa na relação com neoplasias, principalmente com os achados que relatam as taxas de câncer em pacientes com baixos níveis de vitamina D.

Esses achados se tornam promissores para novas pesquisas tanto para o entendimento dos mecanismos destas doenças quanto para se tornar uma coadjuvante no tratamento das doenças acima citadas.

Contudo, os estudos relatam a necessidade diária de radiação solar como fator fundamental na produção da vitamina D, juntamente com a alimentação. Alguns fatores levam à deficiência de vitamina D, dentre eles encontram-se o uso excessivo de filtro solar, precaução exagerada com crianças em fase de crescimento, idosos com restrição generalizada da radiação solar, gerando a longo prazo o aumento nos índices de doenças crônicas, AVC's, falhas no processo metabólico, falhas de comunicação celular, facilitando o aparecimento destas doenças em pacientes insuficientes de vitamina D.

Ainda, há uma questão conflitante em relação à suplementação diária de vitamina D. Alguns artigos sugerem a suplementação diária como uma coadjuvante na prevenção de doenças crônicas e até auxílio no tratamento quando existentes, porém nem todos os estudos chegaram a esta conclusão.[32] Muitos autores relatam que não há uma melhora significativa após tratamentos com suplementos diários de vitamina D.[21,22]

Apesar de todos os estudos, ainda existe a necessidade de avaliar possíveis polimorfismos dos receptores da vitamina D, que podem responder à reposição suplementar.

Os estudos levantados nesta revisão bibliográfica relacionados com vitamina D foram revisões retrospectivas e narrativas, sendo que, com estes resultados, verificou-se a necessidade de novos estudos acerca deste tema, avaliando principalmente qual a relação especifica da 25OH em doenças crônicas e qual o seu papel na comunicação celular.

Abstract

The world population has a longer life expectancy. This fact, coupled with the low birth rate, mortality and the great scientific and technological advances that have occurred in the last decades, have become a worldwide phenomenon. And with it, the appearance of new diseases, shortcomings and concerns with human health. Recent evidence demonstrates that vitamin D insufficiency may be related to the onset of chronic diseases. Vitamin D has been the subject of increasing research in recent years, demonstrating its role in addition to calcium metabolism and bone formation, including its interaction with the immune system, which is not surprising, given the vitamin D receptor in a wide variety of body tissues like brain, heart, skin, gut, gonads, prostate, breasts and immune cells, plus bones, kidneys and parathyroid. These studies show that vitamin D in its sufficient level has been effective in the prevention of diseases such as neoplasias, autoimmune diseases, and as a possible immune response modulator. These findings become promising for new research both to understand the mechanisms of these diseases and to become a coadjuvant in the treatment of chronic diseases.

Keywords

Vitamin D; Deficiency; Quality of life

REFERÊNCIAS

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. 2017. Sinopses do Censo. Disponível http://www.censo2017.ibge.gov.br/sinopse/index.php?dados=12&uf=00
2. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. 2018. Sinopses do Censo. Disponível http://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2018-04/populacao-com-60-anos-ou-mais-cresce-quase-19-em-cinco-anos
3. Silva HS, Lima ÂMM, Galhardoni R. Envelhecimento bem-sucedido e vulnerabilidade em saúde: aproximações e perspectivas. Interface - Comunicação, Saúde, Educação, [s.l.], v. 14, n. 35, p.867-877, dez. 2010. FapUnifesp (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/s1414-32832010005000034.
4. Aizenstein ML. Fundamentos para uso racional de medicamentos, 3°edição. São Paulo: Elsevier, 2016
5. Malta DC, et al. Mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis no Brasil e suas regiões, 2000 a 2011. Epidemiologia e Serviços de Saúde, [s.l.], v. 23, n. 4, p.599-608, dez. 2014. Instituto Evandro Chagas. http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742014000400002.
6. Polasik K, Piotrowska E, Lipinska B, Witkowski JM, Bryl E, Tukaj S. Vitamin D status in patients with rheumatoid arthritis: a correlation analysis with disease activity and progression, as well as serum IL-6 levels. Acta Biochim Pol. 2017;64(4):667-670. Polskie Towarzystwo Biochemiczne (Polish Biochemical Society). http://dx.doi.org/10.18388/abp.2017_1636.
7. Jeffery LE, Raza K, Hewison M. Vitamin D in rheumatoid arthritis-towards clinical application. Nat Rev Rheumatol. 2016;12(4):201-10. doi: 10.1038/nrrheum.2015.140.
8. Holick MF. Vitamin D Status: Measurement, Interpretation and Clinical Application. Ann Epidemiol. 2009 Feb;19(2):73-8. doi: 10.1016/j.annepidem.2007.12.001
9. Hewison M. An update on vitamin D and human immunity. Clin Endocrinol (Oxf). 2012 Mar;76(3):315-25.
10. Bustos R, Rodríguez-Nuñez I; Peña Zavala R; Soto Germani G, et al. Déficit de vitamina D en niños ingresados en cuidados intensivos pediátricos. Revista Chilena de Pediatría, [s.l.], v. 87, n. 6, p.480-486, nov. 2016. SciELO Comision Nacional de Investigacion Cientifica Y Tecnologica (CONICYT). http://dx.doi.org/10.1016/j.rchipe. 2016. 05.008.

11. Galior K, Ketha H, Grebe S, Singh RJ. 10 years of 25-hydroxyvitamin-D testing by LC-MS/MS-trends in vitamin-D deficiency and sufficiency. Bone Rep. 2018;8:268-73.
12. Hossein-Nezhad A, Holick MF. Vitamin D for Health: a global perspective. Mayo Clin Proc. 2013;88(7):720-55.
13. Ferreira CES, Maeda SS, Batista MC, Lazaretti-Castro M, Vasconcellos LS, Madeira MS, et al. Consensus - reference ranges of vitamin D [25(OH)D] from the Brazilian medical societies. Brazilian Society of Clinical Pathology/Laboratory Medicine (SBPC/ML) and Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM). J. Bras. Patol. Med. Lab. 2017;53(6):377-81.
14. Oliveira JF, et al. Vitamina D em crianças e adolescentes com doença falciforme: uma revisão integrativa. Revista Paulista de Pediatria, [s.l.], v. 33, n. 3, p.349-354, set. 2015. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1016/j.rpped.2014.09.008.
15. Beckert M, Irigaray TQ, Trentini CM. Qualidade de vida, cognição e desempenho nas funções executivas de idosos. Estudos de Psicologia, Campinas. 2012: 29(2);155-162 , abril - junho. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/s0103-166x2012000200001.
16. WHO - The World Health Organization. What are social determinants of health? [Retrieved March 26, 2014];2013 from http://www.who.int/social_determinants/sdh_definition/en/
17. Castro LCG. O sistema endocrinológico vitamina D. Arq Bras Endocrinol Metab [Internet]. 2011 Nov;55(8):566-575. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302011000800010&lng=en.http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302011000800010.
18. Goshayeshi L, Saber H, Sahebari M, Rezaieyazdi Z, Rafatpanah H, Esmaily H, et al. Association between metabolic syndrome, BMI, and serum vitamin D concentrations in rheumatoid arthritis.Clin Rheumatol. 2012;31(8):1197-203.
19. Sahebari M, Nabavi N, Salehi M. Correlation between serum 25(OH)D values and lupus disease activity: an original article and a systematic review with meta-analysis focusing on serum VitD confounders. Lupus. 2014;23(11):1164-77. doi: 10.1177/0961203314540966
20. Abou-Raya A, Abou-Raya S, Helmii M. The effect of vitamin D supplementation on inflammatory and hemostatic markers and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus: a randomized placebo-controlled trial. J Rheumatol. 2013;40(3): 265-72.
21. Hansen KE, Bartels CM, Gangnon RE, Jones AN, Gogineni J. An evaluation of high-dose vitamin D for rheumatoid arthritis. J Clin Rheumatol. 2014;20(2):112-4. doi: 10.1097/RHU.0000000000000072.
22. Umar M, Sastry KS, Chouchane A. Role of Vitamin D Beyond the Skeletal Function: A Review of the Molecular and Clinical Studies. Int J Mol Sci. 2018;19(6). pii: E1618.
23. Reins RY, McDermott AM. Vitamin D: Implications for ocular disease and therapeutic potential. Exp Eye Res. 2015;134:101-10.doi: 10.1016/j.exer.2015.02.019.
24. Schuch NJ, Garcia VC, Martini LA. Vitamin D and endocrine diseases. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2009;53(5):625-33. [Article in Portuguese].
25. Jacobs ET, Kohler LN, Kunihiro AG, Jurutka PW. Vitamin D and Colorectal, Breast, and Prostate Cancers: A Review of the Epidemiological Evidence. J Cancer. 2016;7(3):232-40.
26. McDonnell SL, Baggerly C, French CB, Baggerly LL, Garland CF, Gorham ED, et al. Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations ≥ 40 ng/ml Are Associated with >65% Lower Cancer Risk: PLoS One. 2016 Apr 6;11(4):e0152441. Erratum in: Correction: Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations ≥ 40 ng/ml Are Associated with >65% Lower Cancer Risk: Pooled Analysis of Randomized Trial and Prospective Cohort Study. [PLoS One. 2018].
27. Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druesne-Pecollo N, et al. Prospective associations between vitamin D status, vitamin D-related gene polymorphisms, and risk of tobacco-related cancers. Am J Clin Nutr. 2015;102(5):1207-15.
28. O'Brien KM, Sandler DP, Taylor JA, Weinberg CR. Serum Vitamin D and Risk of Breast Cancer within Five Years. Environ Health Perspect. 2017 Jul 6;125(7):077004. doi: 10.1289/EHP943.
29. Buono G, Giuliano M, De Angelis C, Lauria R, Forestieri V, Pensabene M, et al. Pretreatment Serum Concentration of Vitamin D and Breast Cancer Characteristics: A Prospective Observational Mediterranean Study. Clin Breast Cancer. 2017;17(7):559-63.
30. Kim Y, Je Y. Vitamin D intake, blood 25(OH)D levels and breast cancer risk or mortality: a meta-analysis. Br J Cancer. 2014;110 (11):2772-84.
31. Turetsky A, Goddeau RP Jr, Henninger N. Low Serum Vitamin D Is Independently Associated with Larger Lesion Volumes after Ischemic Stroke. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2015;24(7):1555-63.
32. Durup D, Jørgensen HL, Christensen J, Tjønneland A, Olsen A, Halkjær J, et al. A Reverse J-Shaped Association Between Serum 25-Hydroxyvitamin D and Cardiovascular Disease Mortality: The CopD Study. J Clin Endocrinol Metab. 2015;100(6):2339-46.

Correspondência
Daniela Barbosa Kratz
e-mail: danikratz@hotmail.com

Epidemiologia de exames e mortalidade presuntivos à infecção pelo papiloma vírus humano

Epidemiology of presumptive exams and mortality in human papilloma virus infection

Lais Barbosa Zerlotti[1]
Maysa Resende Freitas[2]
Maisa Ribeiro[3]
Carlo José Freire de Oliveira[4]
Wellington Francisco Rodrigues[5]
Camila Botelho Miguel[4,6]
Raquel Loren dos Reis Paludo[3]

Resumo
A infecção pelo papiloma vírus humano (HPV) é responsável pelo aumento de morbidade e mortalidade associada ao desenvolvimento de neoplasias malignas, principalmente de colo do útero, reportando assim uma preocupação eminente em saúde pública. O diagnóstico presuntivo do câncer do aparelho reprodutor feminino é essencial para o direcionamento a testes confirmatórios, bem como ao tratamento e cura das pacientes. Assim, o presente estudo objetivou avaliar a frequência de exames presuntivos de alterações do aparelho reprodutor feminino, incluindo por HPV, bem como correlacionar com número de óbitos nos municípios de Goiás e na cidade de Mineiros-GO. Foi realizada uma avaliação retrospectiva em um período de seis anos (2009 a 2014) tendo como base os dados do Ministério da Saúde. Foram considerados para este estudo os dados de exames citopatológico cérvico-vaginal e microflora, teste anatomopatológico do colo do útero e a CID-10 (C51 a C58). Foi consultado um total de 245 municípios, e foi evidenciada uma diminuição do número de exames preventivos com o passar dos anos avaliados, bem como uma correlação positiva dos exames citopatológicos e anatomopatológicos, e correlações negativas entre os exames preventivos e o número de óbitos, assim como o número de citopatológicos e o período de avaliação no município de Mineiros-GO. Contudo, os exames preventivos ao câncer de colo uterino, bem como ações voltadas à educação em saúde da mulher, podem colaborar na maximização ao combate da mortalidade feminina.

Palavras-chave
HPV; Neoplasia; Preventivo

INTRODUÇÃO

O câncer cervical representa 530 mil novos casos por ano de câncer, e a grande maioria dos casos é atribuída ao papiloma vírus humano (HPV) em todo o mundo.(1) A maior parte do câncer de colo do útero ocorre no Sudeste Asiático, América Latina e África Subsaariana.(1)

O Brasil é um país que tem alta incidência de câncer do colo de útero com risco estimado de 17 casos por 100 mil mulheres.(2,3) Os dados são variáveis de acordo com cada região do país. Em estudo realizado no hospital geral público de Palmas, Tocantins, no período entre 2010 e 2015, constataram-se 462 casos de internação por câncer de colo de útero, ficando atrás apenas do câncer de próstata com 564 ocorrências.(4)

Na região nordeste, o câncer cervical ocupa a segunda posição com 5.050 novos casos, uma taxa de 17,96 para cada 100 mil mulheres, índice acima do nacional.(5) Estimativas do ano de 2012 apontaram o estado de Goiás, na região centro-oeste do Brasil, como o maior prevalente do câncer do colo do útero, com 820 casos por 100 mil mulheres, com destaque para a capital Goiânia o maior número de casos quando comparada a outras capitais da região centro-oeste, apresentando 220 casos por 100 mil mulheres.(6,7)

Embora os dados sejam alarmantes, o câncer de colo de útero, o HPV e outras manifestações sexualmente transmissíveis podem ser detectadas por meio de exame citopatológico, após raspado cérvico-vaginal ou biópsia de tecido lesionado, os quais podem indicar alterações

[1]*Discente do curso de medicina, Centro Universitário de Mineiros - UNIFIMES, Mineiros, GO, Brasil.*
[2]*Enfermeira, técnica de laboratório, Centro Universitário de Mineiros - UNIFIMES, Mineiros, GO, Brasil.*
[3]*Docente adjunto, Centro Universitário de Mineiros - UNIFIMES, Mineiros, GO, Brasil.*
[4]*Docente adjunto, Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM, Uberaba, MG, Brasil.*
[5]*Pós-doutorado em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, Brasil.*
[6]*Docente, Centro Universitário de Mineiros - UNIFIMES, Mineiros, GO, Brasil.*

Instituição: Centro Universitário de Mineiros – UNIFIMES, Mineiros, GO, Brasil

Recebido em 04/03/2018
Artigo aprovado em 25/06/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800681

celulares sugestivas à infecção pelo HPV de alto risco.[5,8] O exame citopatológico, também conhecido como Papanicolau ou exame preventivo, é aplicado como meio mais adequado, simples e barato para o rastreamento do câncer cervical,[7] onde de forma simples é avaliado após esfregaço ou raspado de células esfoliadas do epitélio cervical e vaginal, colaborando para diagnósticos precoces e na redução da morbimortalidade vinculada ao câncer de colo uterino.[7,9]

O câncer do colo do útero é passível de prevenção e cura, principalmente quando as lesões são diagnosticadas no estágio inicial.[10] A prevenção e o diagnóstico precoce do câncer, mediante o conhecimento de seus fatores de risco e marcadores são fundamentais na redução da sua morbimortalidade e de seu impacto na saúde pública.[4,11,12] Dados indicam que o complicador para a redução dos resultados danosos atribuídos ao câncer de colo do útero, estão vinculados com questões socioeconômicas, com destaque para déficit na educação e renda familiar.[5,13,14] A prevalência de positividade e mortalidade pelo câncer de colo do útero podem ser reduzidas por meio de programas de rastreamento efetivos, que possibilitem medidas eficientes no combate à doença e promoção à saúde.[3] E para alcançar eficiência em programas que permitam a redução e minimização dos efeitos deletérios da doença é fundamental a compreensão epidemiológica de dados vinculados aos danos da doença.

Assim, o presente estudo objetivou avaliar a distribuição de exames e óbitos presuntivos à infecção pelo HPV no estado de Goiás e em município interiorano do estado.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento e tipo de estudo

Foi realizada uma avaliação retrospectiva em um período de seis anos (2009 a 2014) em base de dados do Ministério da Saúde (DATASUS). Foram considerados para este estudo os dados de exames citopatológico cérvico-vaginal e microflora, anatomopatológico do colo do útero e a Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com a Saúde (CID10), entre os ítens de C51 a C58. Neoplasia maligna da vulva, vagina, colo do útero, corpo do útero, útero porção não especificada, ovário, outros órgãos genitais femininos não especificados, e da placenta.

Critérios de inclusão

Neste item foram considerados os relatos inseridos na plataforma de dados do DATASUS. O período averiguado foi de seis anos (2009 a 2014). Os dados incluídos foram pertencentes aos municípios do estado de Goiás/Brasil.

Critérios de exclusão

Por se tratar de um estudo correlacional foi considerado critério de exclusão municípios com ausência de notificação em pelo menos um dos dados relacionados para este estudo, como: exames citopatológico cérvico-vaginal e microflora, anatomopatológico do colo do útero e a CID10, entre os itens de C51 a C58.

Extração dos dados

A base de dados foi acessada pelo site: http://datasus.saude.gov.br/, entre os dias 18 e 21 de setembro de 2017, onde o acervo do Sistema de Informação do Câncer do útero (SISCOLO), bem como o de estatísticas vitais contidas no TABNET foi acessado, com posteriores definições de buscas para o CID10 (C51 a C58).

Normalizações e análise dos dados

Após a obtenção dos números absolutos anuais de exames citopatológico cérvico-vaginal e microflora, e os exames anatomopatológicos do colo do útero, os valores mensais foram obtidos pelo fracionamento em 12 para os anos de 2009 a 2013; já para o ano de 2014, o fracionamento foi por 7 (número de meses registrados na base de dados). Após a obtenção do número de casos por mês, os valores foram normalizados pela estimativa da população de 2017 segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017), e expressos em número de ocorrências/mês/1.000 habitantes.

A tabulação dos dados foi através da utilização do programa Excel (Microsoft®). A análise estatística foi realizada através do programa "Instat e Prisma" da Graphpad (http://www.graphpad.com). Em todas as variáveis foram testadas a distribuição normal ("D'Agostino & Pearson omnibus normality test"). Testes não paramétricos foram aplicados para comparação entre os grupos ("Kruskal-Wallis statistic" com pós-teste "Dunn's Multiple Comparison"), e a correlação dos dados pelo teste de Spearman. As diferenças observadas foram consideradas significantes quando $p<0,05$ (5%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação citopatológica permite uma ampla associação da arquitetura celular relacionada a possíveis agentes, entre eles o HPV.[3] Assim, inicialmente avaliamos o número de exames citopatológicos em 245 municípios do estado de Goiás. De forma curiosa, embora haja estimativas de taxas de crescimento populacional, bem como crescimento da população de mulheres no período reprodutivo, verificamos uma diminuição do número de citopatológicos cérvico-vaginal e microflora em relação ao tempo (em anos) ($p<0,05$) (Figura 1). A adesão ao preventivo é um importante instrumento para a prevenção do

câncer de colo do útero, logo auxilia significativamente na redução da mortalidade por doenças relacionadas ao aparelho reprodutor feminino.

A redução do número de preventivos apontados neste estudo pode ser reflexo de alguns fatores vinculados à não realização do exame por mulheres, tais como a falta de informações relacionadas à importância do preventivo, o prévio conhecimento dos procedimentos realizados durante o teste, a possibilidade de se positivar e fatores emocionais gerados pela falta de confiança em profissionais do sexo masculino.[15,16] Assim, medidas coletivas voltadas para a educação em saúde da mulher poderão auxiliar na adesão de atividades voltadas à prevenção.

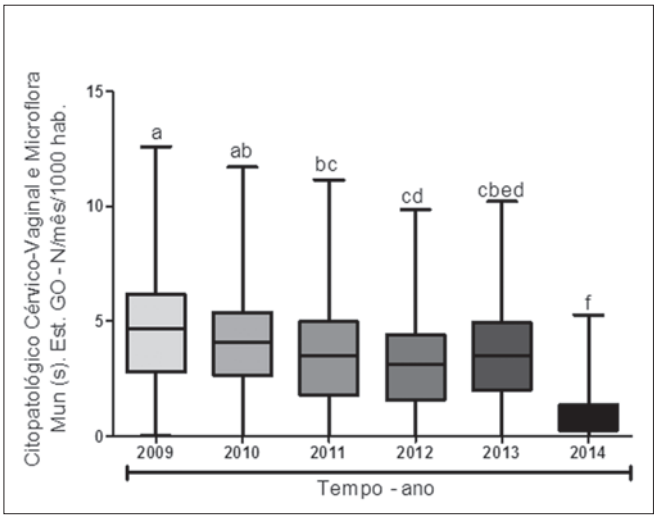


Figura 1. Frequência absoluta de exames citopatológicos cérvico-vaginal e microflora nos municípios do estado de Goiás. Os valores absolutos foram expressos em número por mês por 1.000 habitantes. As letras (a, b, c, d, e, e f) indicam diferença estatisticamente significativa (teste de Kruskal-wallis seguido do teste de comparação múltipla de Dunn's).

Após uma possível indicação de lesão, o próximo passo é uma avaliação anatomopatológica, o que indicaria pronunciadamente os efeitos mais nocivos relacionados à alguns subtipos virais do HPV, capazes de induzir atividades neoplásicas malignas. Assim, avaliamos se houve correlação entre o número de avaliações citopatológicas cérvico-vaginais e microflora com o número de análises anatomopatológicas. Evidenciou-se correlação positiva (Spearman r = 0,31) e estatisticamente significativa entre essas variáveis (p<0,05***) (Figura 2). Estes dados permitem indicar a importância da realização do exame preventivo para o direcionamento e/ou a exclusão de uma possível lesão neoplásica maligna, corroborando com estudos anteriores.[7,17,18]

Levando-se em consideração que o exame preventivo é capaz de indicar possíveis manifestações anatomopatológicas relacionadas com neoplasias malignas, tal avaliação se torna importante para o diagnóstico e tratamento precoce, auxiliando em melhores prognósticos para o paciente. Com isso, verificamos se houve, no período de 2009 a 2014, nos municípios do estado de Goiás, uma correlação entre o número de exames citopatológicos e os casos de óbitos por câncer naquela população (Figura 3a). As análises não demonstraram diferenças estatisticamente significativas (p>0,05) nesta avaliação.

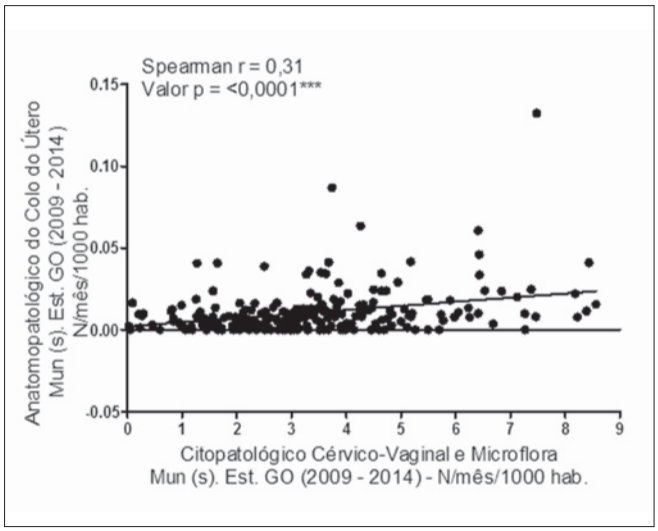


Figura 2. Correlação da frequência absoluta de exames citopatológicos cérvico-vaginal e microflora, e anatomopatológicos do colo do útero nos municípios do estado de Goiás. A correlação foi realizada após a extração e normalização dos dados. Os dados foram expressos em número por mês por 1.000 habitantes. O valor de Spearman r = 0,31 indica uma correlação positiva com p<0,05 (<0,0001).

Por outro lado, houve uma correlação negativa (Spearman r = -0,05), demonstrando, de forma tendenciosa, que quanto maior o número de exames preventivos menor será o de óbitos por neoplasias malignas oriundos de qualquer relação ao aparelho reprodutor feminino, incluindo infecções pelo HPV.

De forma semelhante à avaliação anterior, verificou-se a correlação entre os exames anatomopatológico do colo do útero e o número de óbitos no período de seis anos nos municípios de Goiás (Figura 3b). Os dados revelaram uma correlação positiva (Spearman r = 0,07), e não estatisticamente significativa (p>0,05) entre os dados. Estes achados são sugestivos que há uma correta presunção médica quanto às neoplasias malignas, bem como a uma eminente preocupação em se proporem melhores estratégias para tratamento e consequente cura.

Objetivando colaborar com dados epidemiológicos no município de Mineiros-GO, relacionamos importantes parâmetros quanto ao desenvolvimento de lesões no aparelho reprodutor feminino, associados às neoplasias malignas. Inicialmente verificamos a correlação entre exames citopatológicos cérvico-vaginal e microflora, no período de seis anos (Figura 4a).

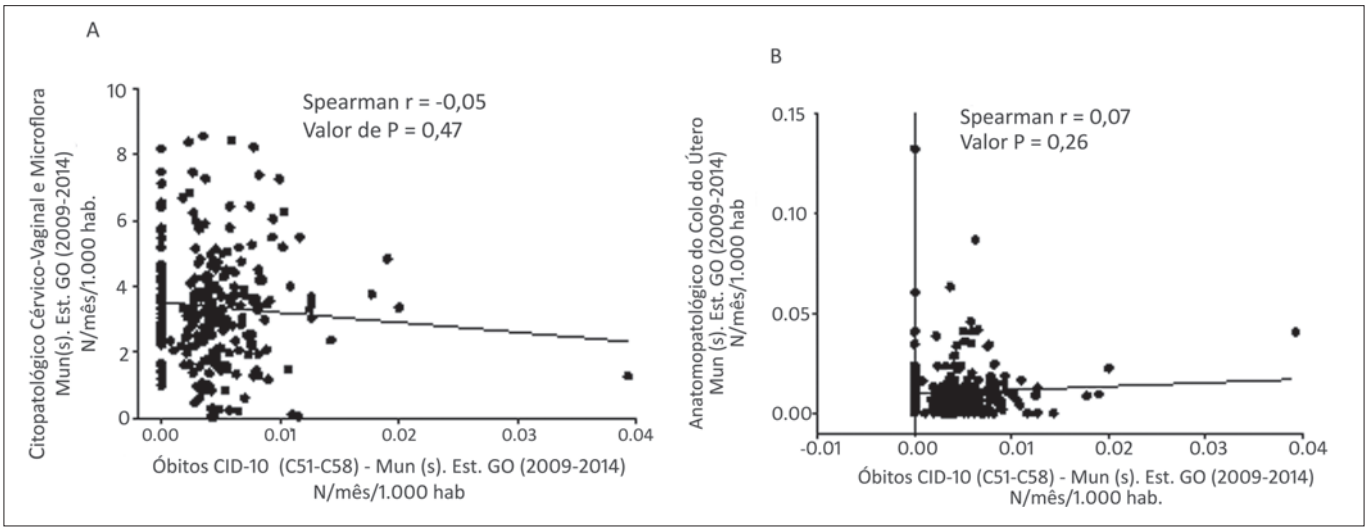


Figura 3. Correlação da frequência absoluta de exames citopatológicos cérvico-vaginal e microflora e número de óbitos pelo CID-10, e entre exames anatomopatológicos do colo do útero e número de óbitos pelo CID-10 (C51-C58) nos municípios do estado de Goiás. As correlações foram realizadas após a extração e normalização dos dados. Os dados foram expressos em número por mês por 1.000 habitantes. Em A, o valor de Spearman r = -0,05 indica uma correlação negativa com p>0,05 (0,47). Em B, o valor de Spearman r = 0,07 indica uma correlação positiva com p>0,05 (0,26).

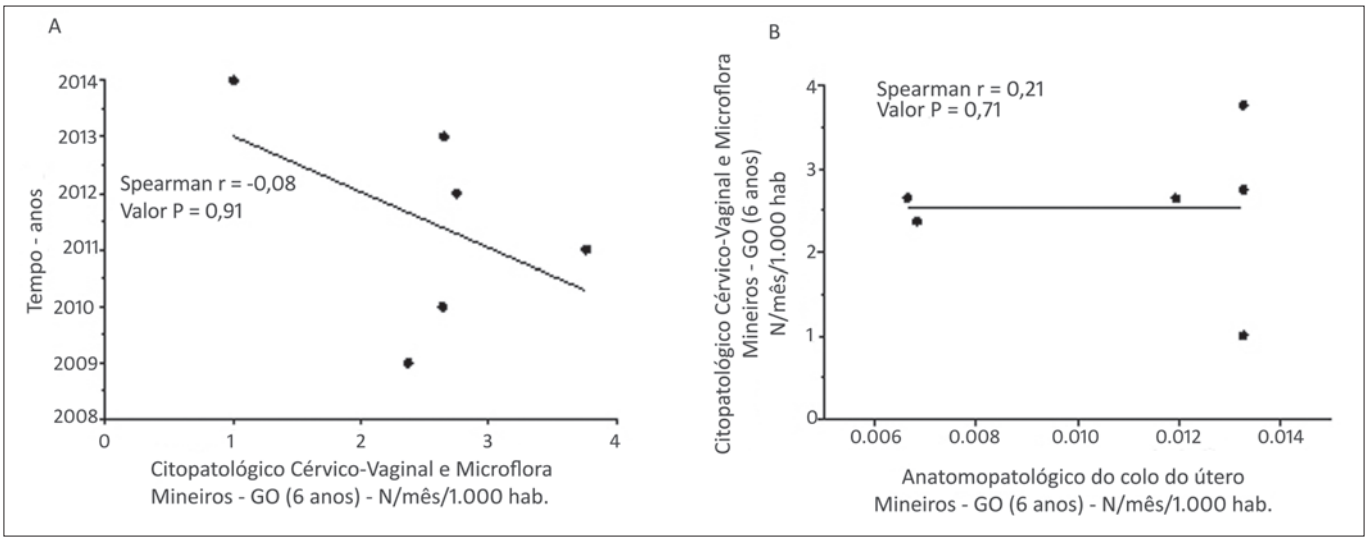


Figura 4. Correlação da frequência absoluta de exames citopatológicos cérvico-vaginal, microflora, anatomopatológicos do colo do útero e o período de seis anos (2009 a 2014) no município de Mineiros - GO. A correlação foi realizada após a extração e normalização dos dados. Os dados foram expressos em número por mês por 1.000 habitantes e o período em anos. Em A, o valor de Spearman r = -0,08 indica uma correlação negativa com p>0,05 (0,91). Em B, o valor de Spearman r = 0,21 indica uma correlação positiva com p>0,05 (0,71).

De forma curiosa observamos uma correlação negativa (Spearman r = - 0,08), não significativa (p>0,05). Entretanto, a tendência é preocupante, uma vez que o número de exames preventivos está relacionado diretamente com melhores prognósticos. O acompanhamento na saúde primária de mulheres ao preventivo de câncer do aparelho reprodutor feminino é de suma importância, pois tem demonstrado contribuir na redução de mortalidade, assim como nos custos governamentais com a saúde pública.[19]

Tentando mostrar uma avaliação em um município em particular, uma análise comparativa também foi realizada entre os exames citopatológicos cérvico-vaginal e microflora, e os exames anatomopatológicos do colo do útero, em Mineiros-GO.

Neste município evidenciamos uma correlação positiva (Spearman r = 0,21) e não significativa (p>0,05) (Figura 4b) nessa comparação. Embora não tenha sido significativa, para este município, essa avaliação mostrou que há uma tendência relacionada para os demais municípios do estado de Goiás, ou seja, mostrou um aumento das avaliações anatomopatológicas dado pelo aumento do exame preventivo.

Por fim, foi realizada uma correlação entre o período de seis anos (2009 a 2014), e o número de mortes relacionadas às neoplasias malignas do aparelho reprodutor feminino no município de Mineiros-GO. Foi encontrada uma correlação positiva (Spearman r = 0,26) e não significativa (p>0,05) (Figura 5) nestes dados. Os resultados encontrados podem ser reflexos da falta de adesão aos exames preventivos nos municípios do estado de Goiás. Alguns dados contidos na literatura demonstram que a falta de adesão aos exames preventivos pela população feminina deve-se a fatores como o desconhecimento do câncer uterino, dos exames e da sua realização, medo e timidez,[16] o que pode ser minimizado com intensificação em educação em saúde.

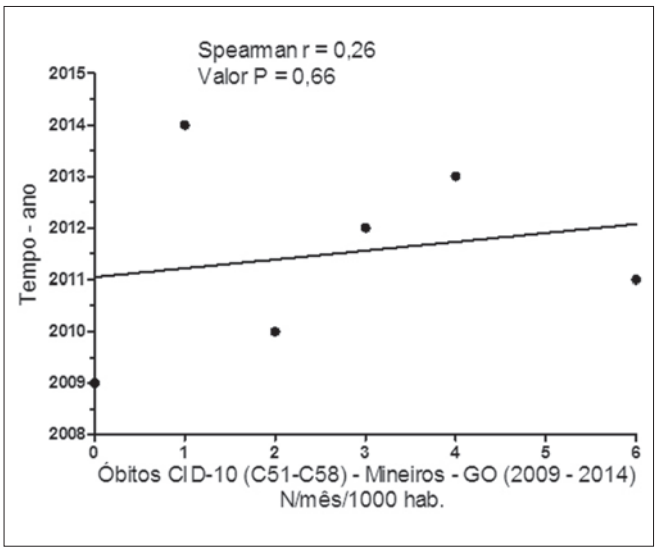


Figura 5. Correlação do período de seis anos (2009 a 2014) e a frequência absoluta de óbitos pelo CID-10 (C51-C58) no município de Mineiros-GO. A correlação foi realizada após a extração e normalização dos dados. Os dados foram expressos em número por mês por 1.000 habitantes e o período em anos. O valor de Spearman r = 0,26 indica uma correlação positiva com p>0,05 (0,66).

Tomados em conjunto, as análises aqui utilizadas corroboram com os dados da literatura, indicando a importância dos testes preventivos para a minimização dos danos causados pela presença e progressão da infecção pelo HPV e sua participação na etiopatogênese do câncer de colo uterino.

Ainda, a busca de medidas preventivas que possam atingir os diferentes seguimentos da sociedade é de fundamental importância, pois assim espera-se colaborar para uma redução na incidência dos novos casos de cânceres do colo do útero;[6] entretanto, a eficiência destas medidas pode não ser uma realidade para todas as regiões do país, sobretudo a região centro-oeste, apontada como um dos grandes centros de altos índices do câncer uterino.[6,7]

CONCLUSÃO

Após avaliação epidemiológica das distribuições de exames e óbitos presuntivos à infecção pelo HPV no estado de Goiás, e em município interiorano do estado, o presente inquérito permite concluir que há uma suma importância no acompanhamento da adesão ao preventivo do câncer do aparelho reprodutor feminino, haja vista que o mesmo correlacionou positivamente com os testes anatomopatológicos, contribuindo assim para o diagnóstico e prognóstico da doença. Além disso, a interpretação dos dados permite ratificar uma correlação negativa entre o preventivo e a mortalidade relacionada às neoplasias malignas do aparelho reprodutor feminino. Contudo, os exames preventivos ao câncer de colo uterino, bem como ações voltadas à educação em saúde da mulher, podem colaborar na maximização ao combate da mortalidade feminina.

Abstract

Human papillomavirus (HPV) infection is responsible for the increased morbidity and mortality associated with the development of malignant neoplasms, mainly of the cervix, thus reporting an eminent public health concern. The presumptive diagnosis of cancer of the female reproductive tract is essential for the targeting of confirmatory tests, as well as for the treatment and cure of the patients. Thus, the present study aimed to evaluate the frequency of presumptive examinations of alterations of the female reproductive tract, including by HPV, as well as to correlate with the number of deaths in the municipalities of Goias and in the city of Mineiros, GO. A retrospective evaluation was carried out over a period of six years (2009 to 2014) in a database of the Ministry of Health. The data of cervical-vaginal cytopathology and microflora, anatomopathological examination of the cervix and ICD-10 (C51 to C58). A total of 245 municipalities were consulted, and a decrease in the number of preventive measures was observed in the period evaluated, as well as a positive correlation between the cytopathological and anatomopathological exams and negative correlations between the preventives and the number of deaths, as well as the number of cytopathological and the evaluation period in the municipality of Mineiros-GO. However, cervical cancer screening, as well as actions aimed at women's health education, can help maximize the fight against female mortality.

Keywords

HPV; Neoplasm; Preventive

REFERÊNCIAS

1. de Martel C, Plummer M, Vignat J, Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. International journal of cancer. 2017;141(4):664-70.
2. Ali-Risasi C, Verdonck K, Padalko E, Vanden Broeck D, Praet M. Prevalence and risk factors for cancer of the uterine cervix among women living in Kinshasa, the Democratic Republic of the Congo: a cross-sectional study. Infect Agent Cancer. 2015 Jul 15;10:20
3. Trindade GB, Manenti SA, Simões PW, Madeira K. Avaliação do rastreamento do câncer do colo do útero e sua periodicidade em um município de Santa Catarina. Medicina (Ribeirao Preto Online). 2017;50(1):1-10.
4. das Neves RR, Mendonça NF, Martins FR, Junior CAR, Dias FCF, Cuellar PMG. Panorama dos casos de câncer atendidos no Hospital Geral Público de Palmas, Tocantins, Brasil. Revista de Patologia do Tocantins. 2017;4(3):22-6.

5. Melo TFV, Bezerra HS, Silva DGKC, Silva RAR. Perfil epidemiológico de mulheres com HPV atendidas em uma unidade básica de saúde. Rev Fund Care Online. 2016 out/dez; 8(4):5177-5183. DOI: http://dx.doi.org/10.9789/2175-5361.2016.v8i4.5177-5183
6. Facina T. Estimativa 2014 - Incidência de Câncer no Brasil. Rev Bras Cancerol. 2014;60(1):63-4.
7. Dalla Libera LS, Alves GN, Souza HG, Carvalho MA. Avaliação da infecção pelo Papiloma Vírus Humano (HPV) em exames citopatológicos. Rev. Bras. Anal. Clin. (Rio de Janeiro) 2016;48 (2): 138-43.
8. Peretto M, Redivo Drehmer LB, Reckziegel Bello HM. O não comparecimento ao exame preventivo do câncer de colo uterino: razões declaradas e sentimentos envolvidos. Cogitare Enfermagem. 2012;17(1).
9. Barbosa Davim RM, de Vasconcelos Torres G, Augusto Rosendo da Silva R, Augusto Rosendo da Silva D. Conhecimento de mulheres de uma Unidade Básica de Saúde da cidade de Natal/RN sobre o exame de Papanicolau. Rev. esc. enferm. USP [Internet]. 2005; 39(3):296-302. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0080-62342005000300007&lng=en&nrm=iso
10. Roden R, Wu T-C. How will HPV vaccines affect cervical cancer? Nat Rev Cancer. 2006 Oct;6(10):753-63.
11. Popim RC, Corrente JE, Marino JAG, Souza CAd. Câncer de pele: uso de medidas preventivas e perfil demográfico de um grupo de risco na cidade de Botucatu. Ciênc. saúde coletiva [Internet]. 2008;13(4):1331-36. Available from:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232008000400030&lng=en&nrm=iso
12. Rocha FP, Menezes AMB, Almeida Jr HL, Tomasi E. Marcadores e fatores de risco para queratoses actínicas e carcinomas basocelulares: um estudo de caso-controle. An bras Dermatol, Rio de Janeiro. 2004;79(4):441-54.
13. Novaes HMD, Braga PE, Schout D. Fatores associados à realização de exames preventivos para câncer nas mulheres brasileiras, PNAD 2003. Ciênc. saúde coletiva. 2006;11(4):1023-35.
14. Martins RB, Santos WLd. Avaliação do Conhecimento dos Enfermeiros Sobre o Controle do Câncer do Colo do Útero em um Município do Estado de Goiás. Revista de Divulgação Científica Sena Aires. 2015;4(2):54-61.
15. de Souza BC, de Carvalho BC, da Costa Andrade G, de Pontes Silva JM, Barbosa AF, Monteiro LAS, editors. Fatores Associados a não Realização do Exame Preventivo do Câncer de Colo Uterino: Oportunidades para a Atuação do Enfermeiro em uma Unidade Básica de Saúde. 12º Congresso Internacional da Rede Unida; 2016.
16. Santos ACS, da Silva Varela CD. Prevenção do câncer de colo uterino: motivos que influenciam a não realização do exame de papanicolaou. Revista Enfermagem Contemporânea. 2015;4(2):179-88.
17. Okamoto CT, Faria AAB, Sater AC, Dissenha BV, Stasievski BS. Profile of Knowledge on HPV and its Prevention among Students at a Private University in Curitiba. Revista Brasileira de Educação Médica. 2016;40(4):611-20.
18. Rocha MB, Gatto TN. O Potencial do Espaço Coletivo para a Divulgação de Informações Preventivas de Promoção da Saúde: Uma Prática Educativa Sobre HPV e Câncer do Colo do Útero. Ensino, Saude e Ambiente. 2016;9(3).
19. Sanches TT, Siqueira-Oliveira T, Papp-Moretti C, Tovani-Palone MR, Hishinuma G. Evolution of the public health system in Brazil versus the current stage of cervical cancer prevention in young women and adolescents. Revista de la Facultad de Medicina. 2017;65(1): 115-20.

Correspondência
Wellington Francisco Rodrigues
Av. Tutunas, 490
38061-500 - Uberaba-MG, Brasil
wellington.frodrigues@hotmail.com

Desempenho da citologia em meio líquido na identificação de agentes microbiológicos cérvico-vaginais

Liquid medium cytology performance in identification of cervico-vaginal microbiological agentes

Ruan Carlos Gomes da Silva[1]
José Irnaldo da Silva[2]
Evelyn Gabryelle dos Anjos Rodrigues[2]
Catharine de Araújo Crisóstomo Pontes[2]
Rachel Di Paola Vilaça Figueirêdo[2]
Sibele Ribeiro de Oliveira[3]
Carlos Eduardo de Queiroz Lima[4]
Adrya Lúcia Peres[5]

Resumo
Verificar o desempenho da citologia em meio líquido na identificação de agentes microbiológicos cérvico-vaginais em relação à citologia convencional. **Métodos:** Estudo analítico e transversal realizado no Laboratório de Citopatologia de um centro universitário. Foram realizadas coletas citopatológicas pelas duas metodologias: convencional e em meio líquido (Liqui-PREP®), além de coleta microbiológica. **Resultados:** Foram avaliadas 67 amostras cérvico-vaginais pelas duas técnicas citopatológicas, verificando-se que a citologia convencional identificou 26 esfregaços com microrganismos de interesse clínico, enquanto que a citologia em meio líquido identificou 20 casos, sendo observada boa concordância entre as técnicas na identificação de *Gardnerella vaginalis* e *Candida* spp. A citologia convencional também evidenciou mais casos de esfregaços com *Trichomonas vaginalis* e ocorreu boa concordância entre as técnicas citopatológicas e o exame microbiológico na identificação de *Gardnerella vaginalis*. **Conclusão:** Observou-se boa concordância entre as técnicas citopatológicas na identificação de *Candida* spp. e *Gardnerella vaginalis*, assim como entre as duas técnicas frente ao exame microbiológico na evidência de *Gardnerella vaginalis*.

Palavras-chave
Neoplasias do colo do útero; Teste de Papanicolaou; *Gardnerella vaginalis*; *Candida* sp.

INTRODUÇÃO

O exame citopatológico é o método de escolha para triagem e rastreamento das lesões pré-neoplásicas e câncer invasor, sendo preconizado sua utilização nas diretrizes nacionais de rastreamento do câncer cervical.[1] No entanto, alguns estudos demonstram que a técnica convencional da citopatologia apresenta algumas limitações, como distribuição não homogênea das células no esfregaço, pequeno número de células que permanecem na lâmina (20%), presença de leucócitos, hemácias e restos celulares em excesso, prejudicando a análise microscópica, além de fatores dependentes da coleta do material celular, como insuficiente representatividade da junção escamo-colunar (JEC) e secagem ou má fixação do material.[2-5]

A citologia em meio líquido foi desenvolvida na tentativa de diminuir as falhas da citologia convencional por apresentar uma melhor disposição celular, facilitando a interpretação, redução do número de hemácias, exsudado inflamatório e muco, além de possibilitar a preparação de lâminas adicionais em caso da necessidade de complementação ou uso de material residual para testes moleculares e identificação de HPV e outros agentes microbiológicos.[6-8] Além disso, esta metodologia permite uma melhor randomização das células que são transferidas para as lâminas, permitindo que todo o material seja processado, evitando, consequentemente, perdas indesejáveis da amostra celular.[9]

A literatura relata que os processos inflamatórios que acometem o colo do útero são considerados cofatores ao desenvolvimento da neoplasia cervical em virtude da desordem da microbiota, com redução dos lactobacilos e aumento de agentes anaeróbios obrigatórios, promovendo aumento do risco de aquisição da infecção pelo HPV.[10,11] Desta forma, a citopatologia, seja pela técnica convencional ou em meio líquido, tem contribuído não somente para o rastreio

[1]*Especialista/Centro Universitário Tabosa de Almeida – Caruaru-PE, Brasil.*
[2] *Centro Universitário Tabosa de Almeida – Caruaru-PE, Brasil.*
[3]*Doutora/Centro Universitário Tabosa de Almeida – Caruaru-PE, Brasil.*
[4]*Doutor/Universidade Federal de Pernambuco – Caruaru-PE, Brasil.*
[5]*Doutora/Centro Universitário Tabosa de Almeida. Instituto de Estudos Avançados Asces-Unita – Caruaru-PE, Brasil.*

Instituição: Centro Universitário Tabosa de Almeida. Instituto de Estudos Avançados Asces-Unita – Caruaru-PE, Brasil.

Recebido em 20/03/2018
Artigo aprovado em 23/08/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800689

do câncer cervical, mas também como uma alternativa diagnóstica para detecção de infecções cérvico-vaginais e melhorias na seleção de condutas, já que estas correspondem a cerca de 70% das queixas em consultas ginecológicas, sendo a *Gardnerella vaginalis*, *Candida* spp. e *Trichomonas vaginalis* os principais agentes responsáveis pelas vaginites e cervicites.[12,13]

O uso de metodologias específicas para identificação de agentes microbiológicos em programas de saúde é limitado, tendo em vista o elevado custo, não sendo frequentemente utilizada na rotina pública de saúde.[14] Por este motivo, o presente estudo teve como objetivo evidenciar o desempenho da citologia em meio líquido na identificação de agentes microbiológicos cérvico-vaginais, buscando verificar a real contribuição desta proposta metodológica em relação à citologia convencional, comumente utilizada e de baixo custo para os serviços de rastreio do câncer cervical.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo analítico e transversal, cuja amostra foi composta de esfregaços cérvico-vaginais de mulheres que realizaram exame citopatológico no período de março a outubro de 2016, no Laboratório Escola de Citopatologia do Centro Universitário Tabosa de Almeida, Asces-Unita. A amostra se deu por conveniência, incluindo os esfregaços de mulheres atendidas no período proposto e na faixa etária acima dos 18 anos.

A coleta do material citopatológico foi realizada utilizando as técnicas convencional e em meio líquido (Liqui-PREP®), para posterior coloração pelo método de Papanicolaou. Todo o processamento da citologia em meio líquido foi realizado seguindo recomendações do manual do fabricante.

Simultaneamente, além da coleta citopatológica, foi realizada coleta para exame microbiológico, utilizando três *swabs* estéreis, sendo um *swab* para a confecção de uma lâmina, que foi corada pelo método de Gram, outro para o exame a fresco com solução fisiológica glicosada e outro para semeio nos meios de isolamento bacteriano.

A realização de exame direto da secreção cérvico-vaginal e coloração de Gram foi conduzida para análise de possíveis *Trichomonas vaginalis* e *Gardnerella vaginalis*, respectivamente. Os meios utilizados para o isolamento bacteriano foram o Agar Sangue de Carneiro e Agar Chocolate, que, após semeadura, foram incubados em estufa bacteriológica a 35-37ºC por 24 a 48 horas, sendo o Agar Chocolate em anaerobiose. O meio Sabouraud foi também semeado e mantido por sete dias em temperatura ambiente para verificação da presença de leveduras.

Após a coleta citopatológica, as lâminas coradas pelo Papanicolaou foram direcionadas à microscopia para análise, diagnóstico e liberação de laudos. Além disso, após a coleta microbiológica, as lâminas coradas pelo Gram e os meios de cultura foram avaliados quanto à presença de microrganismos de interesse clínico. Todo o procedimento foi realizado conforme controle interno de qualidade do laboratório escola.

As análises microscópicas dos esfregaços cérvico-vaginais foram realizadas por profissionais especialistas em citopatologia, experientes na área e com treinamento para leitura e interpretação de lâminas por meio de citologia em meio líquido.

Os dados finais foram analisados pelo Programa Bioestat® versão 5.0 para determinação da concordância entre as técnicas, utilizando o teste de Kappa com confiabilidade de 95%. Para associação foi utilizado o Prism statistical software® (Version 7.0) e teste Chi-square®, $p < 0.05$.

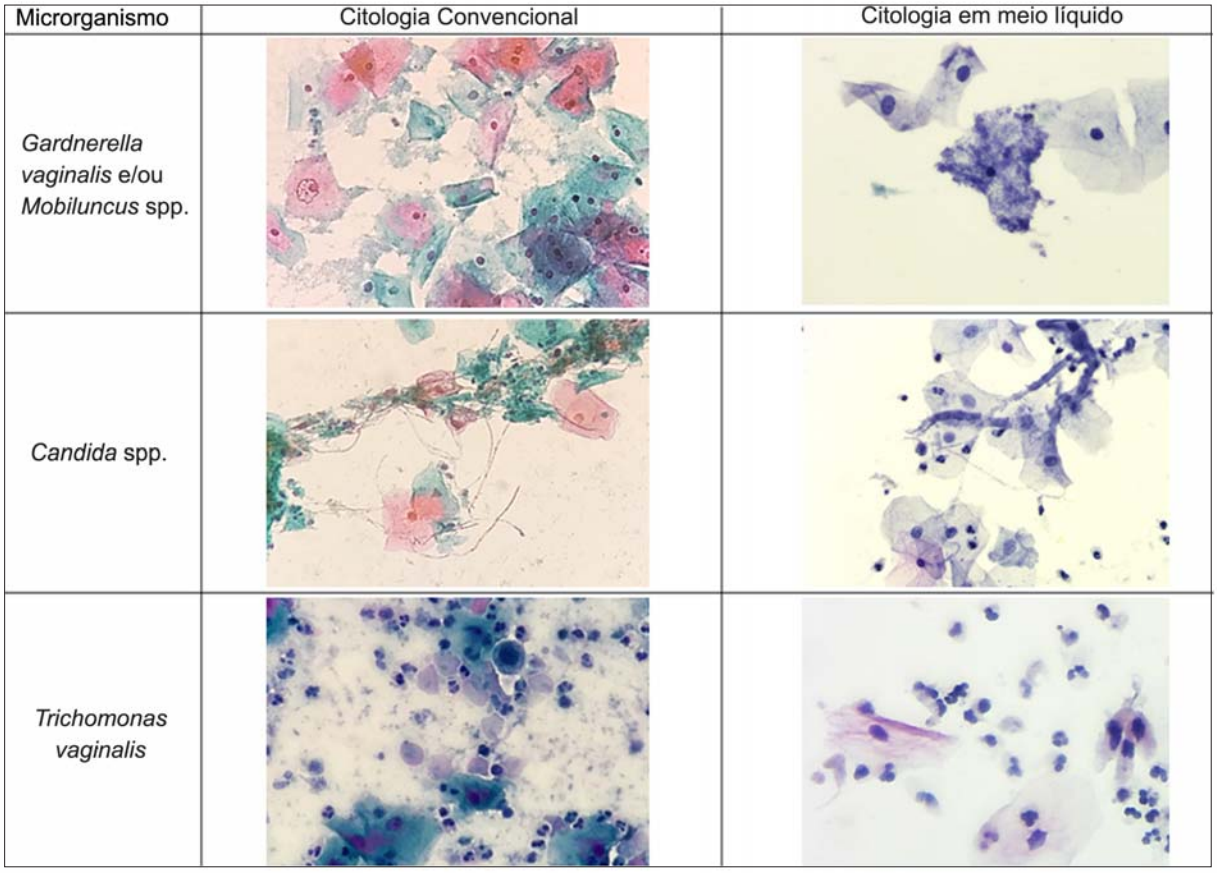
O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita) sob o número 619.400, de acordo com as resoluções e normativas do Ministério da Saúde.

RESULTADOS

Foram avaliadas 67 amostras cérvico-vaginais pelas duas técnicas citopatológicas, sendo possível observar que, por meio da citologia convencional, 17/67 (25,37%) apresentavam características citológicas sugestivas de *Gardnerella vaginalis* e/ou *Mobiluncus* spp. (bacilos supracitoplasmáticos), 05/67 (7,46%) *Trichomonas vaginalis* e 04/67 (5,97%) *Candida* spp. Outros agentes de menor interesse clínico também foram observados, entre estes: *Lactobacillus* spp. 42/67 (29%), outros bacilos 13/67 (38%) e cocos 7/67 (11%) (Quadro 1), sendo importante considerar que alguns casos apresentaram mais de um agente microbiológico.

Conforme observado na Tabela 1, apesar da técnica citopatológica convencional ter evidenciado um maior percentual destes agentes microbiológicos em relação à citologia em meio líquido, observou-se uma boa concordância entre as técnicas na identificação dos agentes *Candida* spp. e *Gardnerella vaginalis,* sendo as concordâncias observadas de 65% e 81% e *Kappa* 0,64 e 0,69 respectivamente, onde p foi <0,0001.

No exame citopatológico convencional foi evidenciada, em 05/67 das amostras, a presença de *Trichomonas vaginalis*, sendo que 1/5 foi observado na citologia em meio líquido. No exame microbiológico da secreção vaginal, apenas um dos casos foi confirmado para *Trichomonas vaginalis* pela análise direta da secreção vaginal a fresco. Foi evidenciada uma boa concordância entre as citologias e o exame microbiológico na evidência de *Gardnerella vaginalis* e/ou *Mobiluncus* spp. (Tabela 2).



Quadro 1. Observação microscópica de microorganismos pelas metodologias: citologia convencional e em meio líquido. (Fonte: arquivo pessoal. Aumento de 400 X).

Tabela 1 - Concordância entre a citologia convencional e em meio líquido na evidência de agentes microbiológicos dos esfregaços cérvico-vaginais avaliados

Agente Microbiológico	CC*	CML**	p***	Kappa
Trichomonas vaginalis	5	1	<0,0004	31%
Gardnerella vaginalis e/ou Mobiluncus spp.	17	16	<0,0001	81%
Candida spp.	4	3	<0,0001	65%
Total	26	20	-	-

*CC: Citologia convencional; **CML: Citologia em meio líquido
***Valor de p < 0,05 foi considerado estatisticamente significativo

Tabela 2 - Concordância entre a citologia convencional e em meio líquido frente ao exame microbiológico, na evidência de agentes infecciosos

Agente microbiológico	CC*	Kappa	CML**	Kappa	Exame microbiológico
Trichomonas vaginalis	5	31%	1	-	1
Gardnerella vaginalis e/ou Mobiluncus spp.	17	57%	16	82%	13
Candida spp.	4	50%	3	73%	5
Total	26	-	20	-	19

*CC: Citologia convencional; **CML: Citologia em meio líquido.

O índice Kappa não foi calculado para *Trichomonas vaginalis* porque o número de esfregaços citopatológicos e exame microbiológico positivo para este agente foi baixo, ficando inviável esta análise estatística.

DISCUSSÃO

Os agentes *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis* e *Candida* spp. são responsáveis por grande parte das vaginites infeciosas, sendo considerados os principais microrganismos de interesse clínico evidenciados em amostras cervicais e vaginais por estarem relacionados a maior risco de aquisição da infecção pelo HPV.[15]

No presente estudo, os agentes microbiológicos mais encontrados na citologia convencional foram *Gardnerella vaginalis* (24,6%), seguido por *Candida* spp.(6,3%) e *Trichomonas vaginalis* (2,4%), corroborando com os achados de Chiuchetta et al.[16] e Oliveira e Almeida,[17] que avaliaram o perfil das inflamações e/ou infecções cérvico-vaginais por meio da citopatologia.

A citologia em meio líquido, no presente estudo, apresentou limitações para detecção de *Trichomonas vaginalis,* que foi evidenciado em apenas 13,4% dos esfre-

gaços, enquanto que utilizando-se a citologia convencional, foram verificados 38,7%. Isso, possivelmente, pode estar relacionado ao procedimento técnico da metodologia em meio líquido, que promove retirada de artefatos da amostra, com consequente eliminação de alguns agentes microbiológicos de interesse. A maior frequência na identificação de *Trichomonas vaginalis* nos esfregaços convencionais também pode ser atribuída a maior experiência dos profissionais citopatologistas com esta técnica.[18,19]

A citologia convencional tem sido utilizada há bastante tempo no diagnóstico de infecções cérvico-vaginais, pois a presença de microrganismos nos esfregaços e as alterações reacionais benignas produzidas pelos mesmos podem contribuir para o estabelecimento do diagnóstico de vaginite ou vaginose e avaliar a intensidade da reação inflamatória, acompanhando sua evolução. Além disso, a técnica citopatológica permite melhor acurácia para a detecção de microrganismos cérvico-vaginais pela aplicação de critérios morfológicos e possui a vantagem, em relação ao exame direto e cultura, de permitir o arquivamento das lâminas.[20]

Alves et al.[21] e Costa,[22] avaliando a eficácia da citologia de base líquida (DNA-Citoliq® e ThinPrep®, respectivamente) na identificação da microbiota vaginal, demonstraram que as técnicas citopatológicas apresentaram resultados similares para a identificação de *Lactobacillus* spp., cocos, *Actinomyces* spp., *Leptotrix vaginalis*, *Chlamydia trachomatis* e *Candida* spp., mas a identificação de *Gardnerella vaginalis* foi significativamente maior na citologia em meio líquido, enquanto que *Trichomonas vaginalis* foi observado com maior frequência nos esfregaços convencionais. A identificação de *Gardnerella vaginalis* no presente estudo revelou similaridade entre as técnicas, sendo possível verificar uma elevada taxa de concordância entre ambas, discordando dos dados apresentados pelo estudo acima mencionado.

Na identificação de *Candida* spp. obtivemos boa concordância entre as técnicas citopatológicas, apesar de que, quando comparado ao exame microbiológico, a concordância foi maior em relação à citologia em meio líquido, justificado pela literatura, pelo fato de a base líquida preservar as estruturas morfológicas da *Candida* spp., por possuírem tamanho e peso maiores que as bactérias, não sendo, desta forma, eliminadas durante o processamento técnico do material citológico.[23]

Os estudos que comparam a citologia convencional com a citologia em meio líquido mostram que os diagnósticos finais das duas técnicas são concordantes, na maioria dos casos, e os valores de sensibilidade e especificidade também tendem a ser semelhantes, porém, o tempo médio de coleta é menor nas amostras da citologia em meio líquido, apesar de os custos com esta técnica ainda serem maiores.[10,24]

Apesar de a citopatologia ter sido criada originalmente para o rastreamento das lesões pré-malignas e malignas do colo do útero, a identificação morfológica e a evidência de sinais citopáticos de agentes infecciosos do colo do útero e vagina, por meio deste método, é de grande importância para o controle de doenças sexualmente transmissíveis, que causam grande impacto na saúde pública brasileira e, muitas vezes, podem atuar como cofatores das lesões intraepiteliais de alto grau e câncer invasor, influenciando a progressão da infecção cervical pelo HPV.[19,25-27]

CONCLUSÕES

Observou-se uma boa concordância entre a citologia convencional e em meio líquido na identificação dos agentes *Candida* spp. e *Gardnerella vaginalis/Mobiluncus* spp., assim como uma boa concordância entre as duas metodologias frente ao exame microbiológico na evidência de *Gardnerella vaginalis/Mobiluncus* spp., sendo possível evidenciar que ambas as técnicas mostram-se efetivas na identificação de diversos agentes microbiológicos de interesse clínico, apesar do melhor desempenho da citologia convencional para a identificação de *Trichomonas vaginalis*.

Abstract

Objective: *To verify the performance of the cytology in liquid medium in the identification of microbiological agents cervico-vaginal, in relation to conventional cytology.* ***Methods:*** *An analytical and transversal study, carried out in the Laboratory of Cytopathology of a university center. Cytopathological collections were carried out by two methodologies: conventional and in liquid medium (Liqui-PREP®), besides microbiological collection.* ***Results:*** *Were evaluated 67 cervico-vaginal samples for both cytopathological techniques, it being verified that the conventional cytology identified 26 smears with microorganisms of clinical interest, whereas cytology in liquid medium identified 20 cases, being observed good agreement was found between the techniques in the identification of* Gardnerella vaginalis *and* Candida *spp. Conventional cytology also evidenced more cases of smears with* Trichomonas vaginalis *and it occurred good agreement between the cytopathological techniques and the microbiological examination in the identification of* Gardnerella vaginalis. ***Conclusion:*** *It was observed good agreement between cytopathological techniques in the identification of* Candida *spp. and* Gardnerella vaginalis*, as well as between the two techniques front the microbiological examination in the* Gardnerella vaginalis *evidence.*

Keywords

Uterine cervical neoplasms; Papanicolaou test; Gardnerella vaginalis; Candida *sp.*

:

REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes Da Silva/INCA. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero. 2ª edição revisada e atualizada - Rio de Janeiro: 2016.
2. Gibb RK, Martens MG. The Impact of liquid-based cytology in decreasing the incidence of cervical cancer. Rev Obstet Gynecol. 2011;4(1): S2-S11.

3. Ronco G, Cuzick J, Pierotti P, Cariaggi MP, Dalla PP, Naldoni C, et al. Accuracy of liquid based versus conventional cytology: overall results of new technologies for cervical cancer screening: randomised controlled trial. BMJ. 2007;335(7609): 28.
4. Machado JP, Nascimento AJ, Leonart MSS. Citologia em meio líquido para exame de citologia cérvico-vaginal. Estudo comparativo sobre a atividade fixadora de etanol e de formaldeído. Rev Inst Adolfo Lutz. 2008;67(2):148-55.
5. Epstein D, Lima AOL, Mochón LG, Balbino JE, Esquivias J. A comparison of the accuracy of liquid cytology versus conventional screening: a meta-analysis of split-sample studies. J R Statis Soc. 2014;177(1):153-68.
6. Pereira SMM, Utagawa ML, Pittoli JE, Aguiar LS, Maeda MYS, Longatto Filho A, et al. Avaliação da celularidade citológica em preparados de base líquida. Rev Inst Adolfo Lutz. 2003;62(1):35-9.
7. Caetano R, Vianna CMM, Thuler LCS, Girianelli VR. Custo-efetividade no diagnóstico precoce do câncer de colo uterino no Brasil. Rev Saúde Coletiva. 2006;16(1): 99-118.
8. Stabile SAB, Evangelista DHR, Talamonte VH, Lippi UG, Lopes RGC. Estudo comparativo dos resultados obtidos pela citologia oncótica cérvico-vaginal convencional e pela citologia em meio líquido. Einstein. 2012;10(4):466-72.
9. Stein MD, Fregnani JHTG, Scapulatempo C, Longatto-Filho L. Identification of cervicovaginal flora in liquid based Surepath™. Results of rodeo study. Citotech Online. 2015;(1):14-20.
10. Araque SEZ, Blanco MG. Citología en base líquida: parámetros de eficacia. Rev Obstet Ginecol Venez. 2015;75(3):187-99.
11. Nsagha DS, Zofou D, Assob JCN, Njunda AL, Nchang CD, MvoNgum N, et al. The epidemiology of Trichomonas vaginalis, Gardnerella vaginalis and Candida albicans co-infections in women attending the Yaounde University Teaching Hospital. Am J Epidemiol Infect Dis. 2015;3(2):28-31.
12. Alves JAB, Nunes MS, Fakhouri R, Martins-Filho PRS, Ribeiro COM, Valença TS, et al. Frequency of Gardnerella vaginalis, Candida spp., Trichomonas vaginalis and pill use or copper intrauterine device use. Int Arch Med. 2016;9(360).
13. Amaral AD. Incidência de Gardnerella vaginalis nas amostras de secreção vaginal em mulheres atendidas pelo Laboratório Municipal de Fraiburgo. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2012;33(3):455-8.
14. Andrade SSC, Silva FMC, Oliveira SHS, Leite KNS, Costa TF, Zaccara AAL. Microbiological agents of vulvovaginites identified by pap smear. J Nurs UFPE on line. 2014;8(2):338-45.
15. Kalantari N, Ghaffari S, Bayani M. Trichomonas, Candida, and Gardnerella in Cervical Smears of Iranian Women for Cancer Screening. N Am J Med Sci. 2014;6(1):25-9.
16. Chiuchetta GIR, Ruggeri LS, Piva S, Consolaro MEL. Estudo das inflamações e infecções cérvico-vaginais diagnosticadas pela citologia. Arq Ciênc Saúde Unipar. 2002;6(2):123-8.
17. Oliveira MV, Almeida MC. Prevalência de citologia inflamatória cervical em mulheres atendidas pelo laboratório de citologia da Fundação de Saúde de Vitória da Conquista: achados citológicos e agentes causais. C&D. 2014;7(1):184-98.
18. Takei H, Ruiz B, Hicks J. Cervicovaginal flora. Comparison of conventional pap smears and a liquid-based thin-layer preparation. Am J Clin Pathol. 2006;125(6):855-9.
19. Barrera-Herrera LE, Abello Y, Ruiz N, Rodríguez-Urrego PA. Comparación entre las técnicas de citocentrifugado y base líquida SurePathTM para procesamiento de muestras no ginecológicas: verificación de la validación. Rev Colomb Cancerol. 2016;20(1):10-6.
20. Chiuchetta GIR, Ruggeri LS, Piva S, Consolaro MEL. Estudo das inflamações e infecções cérvico-vaginais diagnosticadas pela citologia. Arq Ciênc Saúde Unipar. 2002;6(2):123-8.
21. Alves AFV, Filho AC, Namiyama G, Filho AL, Vianna MR, Taromaru E, Dôres GB. Citologia de base-líquida pelo sistema DNA-Citoliq® (DCS) - eficácia na identificação da microbiota vaginal. DST - J Bras Doenças Sex Transm. 2004; 16(4): 27-31.
22. Costa MOLP. Estudo comparativo entre a citologia convencional versus citologia e meio líquido e avaliação do diagnóstico das doenças sexualmente transmissíveis em nível de Saúde Pública. Recife. Tese [Doutorado em Ciências Biológicas] - Universidade Federal de Pernambuco; 2015.
23. Tavares TG, Krunn P, Costa EI, Padilha CML, Pinto AP. Cervicites e seus agentes na rotina dos exames colpocitológicos. DST - J Bras Doenças Sex Transm. 2007;19(1):30-4.
24. Gomes de Oliveira G, Eleutério RMN, Silveira Gonçalves AK, Giraldo PC, Eleutério JJ. Atypical squamous cells in liquid-based cervical cytology: microbiology, inflammatory infiltrate and human papillomavirus-DNA testing. Acta Cytol. 2017;62:28-33.
25. Reis NROG, Costa AMC, Madi RR, Melo CM. Perfil microbiológico e alterações citológicas associadas em material cérvico-vaginal coletado em consultório de enfermagem, de 2009 a 2011 em Aracaju/SE. Sci Plena. 2013;9(5):1-8.
26. Peres AL, Camarotti JRSL, Cartaxo M, Alencar N, Stocco RC, Beçak W, et al. Molecular analysis and conventional cytology: association between HPV and bacterial vaginosis in the cervical abnormalities of a Brazilian population. Genet Mol Res. 2015;14(3):9497-505.
27. Caixeta RCA, Ribeiro AA, Segatti KD, Saddi VA, Figueiredo Alves RR, Santos Carneiro MA, et al. Association between the human papillomavirus, bacterial vaginosis and cervicitis and the detection of abnormalities in cervical smears from teenage girls and young women. Diagn Cytopathol. 2015;43(10):780-5.

Correspondência
Ruan Carlos Gomes da Silva
Avenida Portugal, 584, Bairro Universitário
55016-400, Caruaru-PE, Brasil

Análise do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de bactérias isoladas de amostras de urina em um hospital do sudeste de Minas Gerais

Analysis of the antimicrobial susceptibility profile of bacteria isolated from urine samples at a hospital in the southeast of Minas Gerais

Adrielli Alves Carneiro[1]
Ana Paula Ferreira[2]
Patrícia Guedes Garcia[3]

Resumo
Objetivo: Investigar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de cepas bacterianas de uroculturas de indivíduos provenientes das UTI adulto e UTI neonatal e pediátrica de um hospital privado do sudeste mineiro. **Métodos:** Trata-se de um estudo retrospectivo de natureza descritiva que objetivou analisar uroculturas positivas das Unidades de Terapia Intensiva Adulto e Neonatal e Pediátrica realizadas em um hospital privado do sudeste de Minas Gerais, de setembro de 2016 a agosto de 2017. **Resultados:** O trabalho investigou 212 amostras positivas (34,47%) das quais 116 eram de pacientes do sexo feminino (54,7%). Os microrganismos mais prevalentes foram *K. pneumoniae* (18,0%), *E. coli* (17,6%), *P. aeruginosa* (9,5%) e *E. faecalis* (6,3%). As penicilinas, cefalosporinas, quinolonas e sulfas foram os antimicrobianos que apresentaram maior grau de resistência dentre os Gram negativos. Já entre os Gram positivos, a eritromicina foi a droga menos efetiva. **Conclusão:** O presente estudo alerta para o elevado grau de multirresistência aos antimicrobianos das cepas provenientes das UTIs demonstrando o preocupante cenário atual e a necessidade emergente do desenvolvimento de novas drogas e novas medidas de controle.

Palavras-chave
Farmacorresistência bacteriana; Testes de Sensibilidade; Urina

INTRODUÇÃO

A infecção do trato urinário (ITU) é a causa mais comum de infecções comunitárias e causa importante de infecções relacionadas à assistência em saúde (IRAS), o que gera grande impacto para a saúde pública e alto custo para as instituições hospitalares.[1-3] As ITUs são caracterizadas pela presença de microrganismos desenvolvendo-se nos rins, ureteres, bexiga e uretra, e acomete indivíduos de ambos os sexos, sendo mais frequente no sexo feminino.[1,2]

As recomendações da Sociedade Brasileira de Urologia para o diagnóstico rotineiro de ITU baseiam-se na história clínica, exame físico e análise de urina, sendo a urocultura considerada o método laboratorial de referência para o diagnóstico.[1,2,4] O agente etiológico mais comumente encontrado em uroculturas é a *Escherichia coli*, sendo a sua prevalência tanto em pacientes ambulatoriais quanto em pacientes hospitalizados.[2,4-6]

Sob o ponto de vista clínico, em algumas situações, os resultados do antibiograma ou Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSA) são considerados mais importantes do que a própria identificação do microrganismo envolvido no processo infeccioso, o que é justificado pelo aumento mundial de microrganismos multirresistentes.[4] Alguns estudos recentes demonstram o aumento da resistência desses microrganismos aos antimicrobianos disponíveis no mercado e a importância da terapia empírica na evolução clínica do paciente.[4-12]

A resistência aos antimicrobianos de cepas bacterianas isoladas de urina, tanto em ambiente comunitário quanto hospitalar, é um assunto de preocupação mundial, apresentando-se como um problema de saúde pública.

[1]*Farmacêutica. Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF); MBA em Gestão de Saúde, Acreditação e Auditoria – UFJF; Especialista em Microbiologia pela Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora – Suprema – Juiz de Fora-MG, Brasil.*
[2]*Mestre. Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ); Doutoranda em Ciências da Reabilitação – Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG); Docente da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora – Suprema – Juiz de Fora-MG, Brasil.*
[3]*Mestre em Saúde. Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF); Doutora em Saúde – UFJF; Coordenadora do Programa de Pós-Graduação Latu Senso em Microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora – Suprema – Juiz de Fora-MG, Brasil.*

Instituição: Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora – Suprema – Juiz de Fora-MG, Brasil.

Recebido em 08/05/2018
Artigo aprovado em 11/07/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800699

Desta maneira, o presente estudo teve por objetivo investigar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de cepas bacterianas de uroculturas de indivíduos provenientes das Unidades de Terapia Intensiva Adulta (UTI adulto) e Unidades de Terapia Intensiva Neonatal e Pediátrica (UTI neonatal e pediátrica) de um hospital privado do sudeste mineiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo, retrospectivo, que objetivou avaliar as uroculturas positivas de indivíduos provenientes de UTI adulto e UTI neonatal e pediátrica, realizadas em um hospital privado do sudeste de Minas Gerais, Brasil, no período de setembro de 2016 a agosto de 2017.

Como critério de inclusão foram consideradas todas as amostras de urina positivas com contagem de colônias maior ou igual a 105 unidades formadoras de colônia por mililitros (UFC/mL); entretanto, para as formas fúngicas, não foi realizado teste de susceptibilidade aos antimicrobianos, sendo esse o critério de exclusão.

Os dados que fazem parte da pesquisa foram obtidos através dos arquivos digitais do *software* laboratorial Shift Lis® utilizado pelo laboratório do referido hospital onde as amostras foram analisadas. Para a realização das uroculturas foi utilizado sistema semiautomatizado, com semeadura primária em meio Cled com posterior identificação e antibiograma no sistema Vitek® 2 Compact da Biomérieux com os cartões de identificação GN para Gram negativos, e seus respectivos cartões para antibiograma de fermentadores e não fermentadores AST-N238 e AST-N239, GP para Gram positivos e seu cartão de antibiograma complementar AST-P585, além do YST para identificação de leveduras.[13]

Esse estudo foi previamente aprovado por um Comitê de Ética Institucional de acordo com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde sob o parecer número 2.277.643.

Análise estatística

As análises descritivas foram apresentadas por frequências absolutas e relativas. O *software* utilizado para análise dos dados foi o SPSS versão 19.

RESULTADOS

Foram coletadas 615 amostras de urina, sendo 565 (91,87%) da UTI adulto e 50 (8,13%) da UTI neonatal e pediátrica. Do total de amostras coletadas, 212 (34,47%) apresentaram crescimento positivo.

Dentre as amostras estudadas, 116 (54,7%) eram de pacientes do sexo feminino e a idade média dos indivíduos foi de 75,7±18,7 (média ± desvio padrão) anos, sendo a amplitude na UTI adulto de 12 e 97 anos e na UTI neonatal e pediátrica de 1 mês e 10 anos. Cabe destacar que 80% dos pacientes possuíam 70 anos ou mais.

Na UTI neonatal e pediátrica apenas seis amostras apresentaram-se positivas, correspondendo a 2,8% do total de amostras analisadas. O restante das amostras foi proveniente da unidade coronariana (33/15,6%) e da UTI adulto (163/76,9%).

Das 212 amostras estudadas, dez apresentaram crescimento concomitante de dois microrganismos, totalizando 222 microrganismos isolados. Desses, 64 (28,8%) apresentaram-se como formas fúngicas, 139 (62,6%) são classificados morfotintorialmente como bastonetes Gram negativos e 19 (8,6%) como cocos Gram positivos.

As bactérias mais prevalentes foram: *Klebsiella pneumoniae* (40/18,0%), *Escherichia coli* (39/17,6%), *Pseudomonas aeruginosa* (21/9,5%), *Enterococcus faecalis* (14/6,3%), *Serratia marcescens* (10/4,5%), *Proteus mirabilis* (8/3,6%), *Enterobacter cloacae complex* (6/2,7%) e *Klebsiella oxytoca* (4/1,8%).

Os isolados pertencentes à família *Enterobacteriaceae* foram os mais prevalentes (114/51,4%), seguidos pelos fungos (64/28,8%), bastonetes Gram negativos não fermentadores (25/11,3%), cocos Gram positivos do gênero *Enterococcus* sp. (16/7,2%) e, finalmente, pelos pertencentes ao gênero *Staphylococcus* sp. (3/1,4%).

No teste de susceptibilidade aos antimicrobianos, os microrganismos pertencentes à família *Enterobacteriaceae* apresentaram um alto índice de resistência, 63,2% das bactérias isoladas apresentaram resistência a pelo menos três classes diferentes de antibióticos. Em relação à sensibilidade, 69,6% das cepas isoladas foram susceptíveis a pelo menos um dos carbapenêmicos e 71,0% a pelo menos um dos aminoglicosídeos, apresentando-se ainda sensíveis à tigeciclina (82,9%), à nitrofurantoína (82,9%) e à colistina (77,1%).

Das 114 enterobactérias isoladas, 31,6% (36/114) apresentaram-se positivas para a pesquisa de beta lactamase de espectro estendido (ESBL), sendo, dessas, 37,5% (15/40) *E.coli* e 45,7% (21/46) *Klebsiella* sp.

O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos para o grupo dos bastonetes Gram negativos não fermentadores não foi diferente, todas as cepas estudadas apresentaram resistência a pelo menos três classes diferentes de antimicrobianos e somente três antibióticos dos 16 utilizados apresentaram-se sensíveis em pelo menos 50,0% das cepas testadas: amicacina (50,0%), piperacilina com tazobactam (66,7%) e colistina (96,0%). Em relação aos carbapenêmicos, apenas 36,4% dos isolados eram sensíveis a meropenem e 40,0% a imipenem.

Dentre os estafilococos, uma cepa, das três isoladas, apresentou resistência a pelo menos três classes de antimi-

crobianos, além de 66,7% dos isolados serem resistentes a oxacilina e 100,0% a eritromicina. Entretanto, em relação à sensibilidade, os antimicrobianos vancomicina, linezolida, teicoplanina e rifampicina foram eficazes em 100% dos isolados.

Já entre as 31 cepas de enterococos isolados, 31,3% apresentaram resistência simultânea a pelo menos três classes de antimicrobianos, contudo 100,0% apresentaram-se sensíveis a vancomicina, linezolida e tigeciclina.

DISCUSSÃO

No presente estudo, a maioria das bactérias isoladas foi proveniente de pacientes do sexo feminino (54,7%), corroborando os achados de diversos estudos similares, e explicado anatomicamente.[5,6,8-11,14-17] A prevalência de identificação nas amostras foi de *Klebsiella pneumoniae* (18,0%), *Escherichia coli* (17,6%) e *Pseudomonas aeruginosa* (9,5%), sendo semelhante à prevalência reportada por Derbie et al.,[16] Rezaee et al.,[11] Gilani et al.,[17] Bitencourt et al.[5] e Yoon et al.,[6] o que chama a atenção por serem bactérias Gram negativas com grande probabilidade de desenvolverem rapidamente mecanismos de resistência a múltiplos antibióticos.[12]

É interessante observar que na maioria dos trabalhos referenciados encontra-se pelo menos um desses microrganismos mais prevalentes como agente principal de ITU, independente da população analisada, o que demonstra a ampla disseminação desses microrganismos.[5,6,8-11,14-17]

O coco Gram positivo mais isolado foi o *Enterococcus faecalis*, mesmo microrganismo descrito no estudo de Rezaee et al.[11] e Yoon et al.,[6] o que se torna coerente já que o público alvo de ambos também era de pacientes hospitalizados. Entretanto, Haque et al.[14] e Reis et al.[10] demonstraram como mais prevalente entre os cocos Gram positivos o *Staphylococcus saprophyticus*, apesar do primeiro trabalhar com amostras hospitalares.

Quanto ao perfil de sensibilidade, as enterobactérias apresentaram maior sensibilidade aos carbapenêmicos, aminoglicosídeos, nitrofurantoína, tigeciclina e colistina, sendo pelo menos 69,6% das cepas sensíveis. Já os não fermentadores apresentaram um perfil mais alarmante, sendo apenas 36,4% das cepas sensíveis ao meropenem e 41,6% à gentamicina. Nesse grupo, os antimicrobianos com maior sensibilidade foram piperacilina com tazobactam (66,7%) e colistina (96,0%), resultado similar ao encontrado por Yoon et al.,[6] Gilani et al.[17] e Derbie et al.[16]

O perfil de sensibilidade aos antimicrobianos dos Gram negativos mostra-se preocupante considerando que 63,2% dos fermentadores e 100,0% dos não fermentadores apresentaram resistência a pelo menos três classes de antibióticos. Além disso, 31,6% dos fermentadores apresentaram positividade para ESBL, sendo 37,5% das cepas de *E.coli* e 45,7% das *Klebsiella* sp. positivas para esse importante marcador de resistência, o que diferiu do estudo de Rossignol et al.,[8] onde apenas 1,6% das cepas de *E.coli* foram positivas para pesquisa de ESBL em amostras comunitárias.

É importante ressaltar que os dados estudados não evidenciaram a produção das carbapenemases pelas enterobactérias, porém, com a observação dos perfis de susceptibilidade das diferentes cepas, é possível perceber um número considerável de isolados resistentes a todos os carbapenêmicos testados (28,1%), o que faz levar-se em consideração a presença dessas enzimas, que são importantíssimas como mecanismo de resistência e, consequentemente, fator de virulência.

Para os estafilococos, a susceptibilidade aos antimicrobianos apresentou-se mais otimista, sendo apenas a eritromicina resistente a todas as cepas, e clindamicina e oxacilina sensíveis apenas em 33,3% dos casos. É prudente ressaltar que tal resultado pode estar falseado, visto que apenas três isolados se enquadram nesse grupo, apesar da alta sensibilidade à vancomicina e teicoplanina, e a baixa sensibilidade à eritromicina terem sido relatadas em outros estudos.[6,15]

Entre os enterococos, os antimicrobianos vancomicina, linezolida e tigeciclina apresentaram 100% de sensibilidade, enquanto que a eritromicina apresentou baixo índice de sensibilidade (18,7%), o que coincide com os resultados de Bitew et al.[15] e Yoon et al.,[6] porém deve-se ressaltar que 31,3% dos enterococos apresentaram resistência múltipla a três classes de antimicrobianos, o que serve de alerta.

As análises do perfil de resistência encontrado em todos os grupos bacterianos vão ao encontro das descrições realizadas por todo o mundo, o que gera preocupação principalmente em relação às terapias empíricas, já que os níveis de resistência estão aumentando independentemente da espécie bacteriana.

CONCLUSÕES

Mediante o exposto, foi possível verificar que as cepas bacterianas isoladas mostraram nível importante de resistência à grande maioria dos antimicrobianos utilizados na clínica médica, principalmente os Gram negativos, que são os mais prevalentes.

O resultado do presente estudo alerta para a multirresistência aos antimicrobianos próximos a nós, o que serve como incentivo ao uso racional de medicamentos por todos os profissionais de saúde além da população. O cenário atual é preocupante, e o desenvolvimento de novas drogas e novas medidas de controle se faz cada vez mais importante num mundo globalizado onde todas as áreas da microbiologia se fazem presentes.

Abstract

Objective: *To investigate the antimicrobial susceptibility profile of bacterial strains of urocultures of individuals from ICUs adult and ICU neonatal and pediatric from a private hospital in the southeast of Minas Gerais.* ***Methods:*** *This is a descriptive, retrospective study aimed at analyzing positive urine cultures of the Adult and Neonatal and Pediatric Intensive Care Units (ICUs) performed in a private hospital in the southeast of Minas Gerais, from September 2016 to August 2017.* ***Results:*** *The study investigated 212 positive samples (34.47%), of which 116 were female patients (54.7%). The most prevalent microorganisms were* K. pneumoniae *(18.0%),* E. coli *(17.6%),* P. aeruginosa *(9.5%) and* E. faecalis *(6.3%). Penicillins, cephalosporins, quinolones and sulfas were the antimicrobial agents that presented the highest degree of resistance among Gram negative. Among Gram positive, erythromycin was the least effective drug.* ***Conclusion:*** *The present study warns of the high degree of antimicrobial multiresistance of strains coming from ICU adult and ICU neonatal and pediatric , demonstrating the current worrisome scenario and the emerging need for the development of new drugs and new control measures.*

Keywords

Bacterial drug resistance; Sensitivity tests; Urine

REFERÊNCIAS

1. Sociedade Brasileira de Urologia. Diretrizes para Infecções Urológicas. Brasil: Sociedade Brasileira de Urologia, 2010.
2. European Association of Urology. Urological Infections. Available from: URL:http://uroweb.org/guideline/urological-infections/#1. Acessed May, 06, 2017.
3. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medidas de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.
4. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): boas práticas em microbiologia clínica. Barueri: Sociedade Brasileira de Patologia Clínica, 2015.
5. Bitencourt JS, Pavanelli MF. Urinary infection in patients of public health care of Campo Mourão-PR, Brazil: bacterial prevalence and sensitivity profile. J Bras Patol Med Lab. 2014;50(5):346-51.
6. Yoon BI, Kim HS, Kim SD, Cho KJ, Kim SW, Há U-Syn, et al. Changes in bacterial species and antibiotic sensitivity in intensive care unit: Acquired urinary tract infection during 10 years interval (2001-2011). Urol J. 2014;11(2):1478-84.
7. Hanna-Wakim RH, Ghanem ST, Helou MW, Khafaja AS, Shaker RA, Hassan AS, et al. Epidemiology and characteristics os urinary tract infections in children and adolescentes. Front Cell Infect Microbiol. 2015;5:45
8. Rossignol L, Vaux S, Maugat S, Blake A, Barlier R, Heym B, et al. Incidence of urinary tract infections and antibiotic resistance in the outpatient setting: a cross-sectional study. Infection. 2017;45(1):33-40.
9. Fagan M, Lindbæk M, Grude N, Reiso H, Romøren M, Skaare D, et al. Antibiotic resistance patterns of bacteria causing urinary tract infections in the elderly living in nursing homes versus the elderly living at home: an observational study. BMC Geriatr. 2015;15:98.
10. Reis AC, Santos SR, Souza SC, Saldanha MG, Pitanga TN, Oliveira RR. Ciprofloxacin resistance pattern among bacteria isolated from patients with community-acquired urinary tract infection. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2016;58:53.
11. Rezaee MA, Abdinia B. Etiology and Antimicrobial Susceptibility Pattern of Pathogenic Bacteria in Children Subjected to UTI: A Referral Hospital-Based Study in Northwest of Iran. Medicine (Baltimore). 2015;94(39):e1606.
12. Bader MS, Loeb M, Brooks AA. An update on the management of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance. Postgrad Med. 2017;129(2):242-58.
13. bioMérieux Brasil. Produtos e Serviços. Disponível em: URL: http://www.biomerieux.com.br/diagnostico-clinico/produtos-e-servicos. Acesso em 14 janeiro 2018.
14. Haque R, Akter ML, Salam MA. Prevalence and susceptibility of uropathogens: a recente report from a teaching hospital in Bangladesh. BMC Res Notes. 2015; 8:416.
15. Bitew A, Molalign T, Chanie M. Species distribution and antibiotic susceptibility profile of bacterial uropathogens among patients complaining urinary tract infections. BMC Infect Dis. 2017; 17:654.
16. Derbie A, Hailu D, Mekonnen D, Abera B, Yitayew G. Antibiogram profile of uropathogens isolated at Bahir Dar Reional Health Research Laboratory Centre, Northwest Ethiope. Pan African Med J. 2017; 26:134.
17. Hussain Gilani SY, Ali Shah SR, Ahmad N, Bibi S. Antimicrobial resistance patterns in community acquired urinary tract infections. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2016;28(3):572-4.

Correspondência

Adrielli Alves Carneiro

Alameda Salvaterra, 200 - Salvaterra

36033-003 – Juiz de Fora-MG, Brasil

Incidência de síndrome metabólica em pacientes que utilizam os serviços do laboratório clínico da PUC do estado de Goiás

Incidence of metabolic syndrome in patients using the services of the clinical laboratory of PUC of Goiás state

Mateus de Melo Neves
Mauro Meira de Mesquita

Resumo
A síndrome metabólica (SM) representa a anormalidade metabólica mais comum da atualidade e também a maior responsável por eventos cardiovasculares na população. Apesar da importância, há carência de dados epidemiológicos na população brasileira. Este estudo teve como objetivo avaliar a incidência da SM em pacientes que utilizam o Laboratório de Análises Clínica da PUC - Goiás (LAC) que tinham em seus exames perfil lipídico, glicemia de jejum e que apresentavam uma circunferência abdominal elevada. Os critérios utilizados foram os propostos pelo *National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III). No estudo foi encontrada a prevalência de 34% diagnosticados com SM, sendo 13% no sexo masculino e 21% no sexo feminino. Conclui-se que foi encontrado um percentual alto para SM nos pacientes que estão fazendo seus exames de rotina no LAC, pois no estudo não teve associação com estilo de vida e doenças existentes.

Palavras-chave
Síndrome metabólica; NCEP-ATPIII; Perfil lipídico; Glicemia; Circunferência abdominal

INTRODUÇÃO

As mudanças ocorridas nas últimas décadas nos padrões culturais, socioeconômicos e nutricionais alteraram consideravelmente o estilo de vida da população. Houve melhoras significativas na qualidade de vida do homem, mas em contrapartida ampliaram transformações notáveis que intervêm no processo saúde-doença, como hábitos alimentares extremamente alterados e gastos de energia referentes às atividades diárias.[1]

O aumento do sedentarismo, etilismo, tabagismo e o estresse da modernidade têm colaborado muito para evolução das doenças crônicas como a hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes *mellitus* (DM) e obesidade, que juntas participam constantemente nas alterações das lipoproteínas plasmáticas e avançam na ameaça de doenças cardiovasculares.[1,2]

A identificação da HAS é determinada por níveis altos da pressão arterial (PA) sistólica ≥ 140 mmHg e/ou de (PA) diastólica ≥ 90 mmHg correlacionados regularmente a alterações funcionais e/ou estruturais dos órgãos alvos (coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos) e a alterações metabólicas.[3]

Já o DM é um distúrbio metabólico na irregularidade na ação da insulina, na secreção da mesma ou em ambas.[4]

E a obesidade é caracterizada pelo acúmulo exagerado de gordura corporal no paciente e, para seu diagnóstico, é utilizado o Índice de Massa Corporal (IMC). O resultado obtido é dado pela divisão entre o peso e a altura do paciente elevada ao quadrado (kg/m^2). O padrão utilizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) identifica como normopeso ideal valores entre 18,5 a 24,9, considerado obeso acima de 30.[5]

A concomitância dessas alterações, associada à resistência insulínica, estabelece a síndrome metabólica (SM). A resistência à insulina foi denominada de "Síndrome X" por Reaven em 1988, e a primeira definição de SM foi em 1998 pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Desde então, diversos órgãos internacionais têm colocado alguns padrões próprios para discernir a ocorrência dessa síndrome.[1,6]

A definição de síndrome metabólica pela OMS é fundamentada em dados clínicos e laboratoriais (glicemia de jejum, resistência à ação da insulina, pressão arterial, circunferência da cintura e quadril, índice de massa corporal, triglicerídeos, HDL-C e microalbuminúria).[7,8,13]

Escola de Ciências Médicas, Farmacêuticas e Biomédicas. Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás - Goiânia-GO, Brasil.

Instituição: Escola de Ciências Médicas, Farmacêuticas e Biomédicas. Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás - Goiânia-GO, Brasil.

Recebido em 05/06/2018
Artigo aprovado em 23/08/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800738

Em 2001, o *National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III) apresentou critérios semelhantes, porém mais fácil de serem analisados, os quais incluem a glicemia de jejum, pressão arterial, circunferência abdominal, triglicerídeos e HDL-C. Estes critérios são também recomendados pela I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (I-DBSM).[7,8]

Em 2005, os padrões do NCEP-ATP III foram revisados e colocaram a presença de três dos cinco critérios para sugerir o diagnóstico da SM, sendo a circunferência abdominal (> 88 cm para mulheres e > 102 cm para os homens), o aumento dos triglicérides (≥ 150 mg/dL), a redução do HDL- col (< 50 mg/dL para mulheres e < 40 mg/dL para homens), a pressão arterial (≥ 130/85 mmHg) e a glicemia de jejum elevada (≥ 100 mg/dL).[9,13]

Contudo, a *International Diabetes Federation* (IDF) e *American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology* (AACE/ACE) têm critérios que diferem dos demais. A IDF relaciona a circunferência abdominal conforme a raça e a AACE/ACE estabelece a glicose de jejum em valores de 110-125 mg/dL.[13]

Diante disso, é relevante que seja definida uma classificação universal que facilite comparações entre os estudos, pois a prevalência da SM é avaliada de acordo com diferentes critérios de definição.[7,8]

A SM é caracterizada por um conjunto de variações fisiopatológicas coexistentes, sendo a principal anormalidade metabólica e a mais frequente na contemporaneidade, acometendo a população adulta e crescendo cada vez mais por conta da obesidade e estilo de vida.[10] É também a maior causadora de episódios cardiovasculares na população, elevando a mortalidade geral em cerca de 1,5 vezes e a cardiovascular em cerca de 2,5 vezes. Observado também crescimento de 12% na mortalidade cardiovascular em indivíduos com a SM quando comparados com os que não se enquadravam nos critérios da SM.[1,9,11]

O desenvolvimento da síndrome vai depender da predisposição genética e elementos ligados ao hábito de vida, tais como obesidade e sedentarismo.[1]

A prevalência mundial de SM é de 25-25%, sendo mais frequente em mulheres. Não há dados estatísticos gerais em relação à prevalência no Brasil, apenas alguns estudos pontuais com idosos (30,9% a 53,4%), imigrantes japoneses (54,3%), população rural (21,6%) e em regiões específicas como a região semiárida baiana 38,4% (em mulheres) e 18,6% (em homens).[12,13]

Diante de tudo, a finalidade essencial no diagnóstico da SM é a adaptação do tratamento e o equilíbrio dos fatores de risco que possam intensificar o quadro na proporção em que as doenças envolvidas nesta síndrome são crônicas e suas consequências imutáveis.[14]

O objetivo deste trabalho foi detectar possíveis portadores de SM em usuários do laboratório de análises clínicas (LAC) da PUC Goiás, com perfil que se encaixem nos critérios de inclusão desta pesquisa, para que tenhamos dados desta síndrome em parte da população de Goiânia, e, com isso, aumentarmos o conhecimento epidemiológico sobre o tema, contribuindo com futuros estudos desta doença cada vez mais incidente em nossa população. Os dados obtidos nesta pesquisa, posteriormente, serão anexados junto aos exames já preconizados pelo médico assistente e enviados ao clínico para possíveis avaliações necessárias.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo experimental transversal quantitativo, cujos dados foram baseados nos resultados de exames laboratoriais de pacientes que utilizam o LAC da PUC Goiás. Os dados foram coletados no período de novembro de 2017 a abril de 2018 para determinar a prevalência de síndrome metabólica em pacientes ambulatoriais da PUC Goiás.

Os critérios para inclusão admitidos no estudo foram pacientes que buscaram os serviços do LAC no período estabelecido para a pesquisa, e que continham em seu pedido médico exames como perfil lipídico, glicemia de jejum e que possuíam padrões de circunferência abdominal acima do normal (> 88 cm para mulheres e > 102 cm para os homens).

Os pacientes foram convidados a participar da pesquisa e orientados sobre a necessidade da avaliação de seu peso, altura (para composição do IMC), da circunferência abdominal e da pressão arterial. A participação foi voluntária, por meio da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, onde os autores informam também que a identidade dos participantes é mantida em sigilo em todas as etapas da pesquisa e na publicação dos resultados.

A pressão arterial foi aferida de acordo com as VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, utilizando o esfigmomanômetro de coluna de mercúrio calibrado, cujo manguito foi apropriado com o tamanho do braço do paciente, e o diafragma do estetoscópio colocado sobre a linha de sua artéria braquial. O manguito foi insuflado, com o paciente em repouso, por pelo menos cinco minutos.[3]

Aferiu-se a pressão duas vezes em intervalos de um minuto. A pressão sistólica (PAS) foi gravada no primeiro som Korotkoff e pressão diastólica (PAD) no desaparecimento do som. Os valores foram anotados.[3]

O peso foi avaliado por meio de uma balança mecânica antropométrica (adulto) tipo plataforma, com graduação de 100 g da marca Welmy. O paciente foi posicionado de pé e descalço no centro da base da balança com o mínimo

de adornos. A estatura foi mensurada com o estadiômetro conectado à própria balança mecânica, com precisão de 0,5 cm e alcance máximo de 2 m. O peso foi anotado com o indivíduo descalço na posição ereta e com os calcanhares juntos.[2]

O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado a partir dos dados do peso e da altura por meio da fórmula: IMC = Peso/Altura.[2] A medida da circunferência abdominal se fez com fita métrica circundando a metade da distância entre a crista ilíaca e o rebordo costal inferior.[8]

Os exames bioquímicos foram realizados no LAC da PUC Goiás com kits comerciais, sendo a glicemia de jejum e a dosagem do HDL- colesterol e dos triglicérides necessários para o diagnóstico da SM[8] coletados respectivamente no tubo com fluoreto e em tubo sem anticoagulante para obtenção do soro.

Foram utilizados os critérios preconizados pela NCEP-ATP III para a caracterização da SM, onde é necessária a presença de três dos cinco critérios a seguir: circunferência abdominal superior a 102 cm para homens e 88 cm para mulheres, pressão arterial superior ou igual a 130/85 mmHg, glicemia de jejum superior ou igual a 100 mg/dl, triglicérides (≥ 150 mg/dL) e a redução do HDL- col (< 50 mg/dL para mulheres e < 40 mg/dL para homens).

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás sob o protocolo 2.654.056

Foi construído um banco de dados no programa Microsoft Excel 2010. O mesmo foi utilizado para elaboração de tabelas e gráficos. A pesquisa não recebeu financiamento para sua realização e não houve conflito de interesses.

RESULTADOS

Foram selecionados cem indivíduos com perfil compatível com os critérios de inclusão para esta pesquisa e que fizeram exames de rotina no LAC da PUC- Goiás. A Tabela 1 mostra a distribuição percentual da amostra por sexo dos indivíduos participantes do estudo. Dos cem pacientes, 36% eram do sexo masculino e 64% do sexo feminino.

Foram identificados 34% de indivíduos com SM de acordo com os critérios pelo NCEP-ATP III, sendo 13% do sexo masculino e 21% do sexo feminino.

Tabela 1 - Prevalência de SM de acordo com o sexo

Sexo	Diagnóstico Positivo SM	Diagnóstico Negativo SM	Total
M	13%	23%	36%
F	21%	43%	64%
Total	34%	66%	100%

SM: Síndrome metabólica; M: Masculino; F: Feminino

O Gráfico 1 apresenta uma distribuição dos pacientes de acordo com a faixa etária. A estratificação faixa etária (infantil, adulto jovem, adultos e idosos) teve como finalidade verificar a susceptibilidade à SM em todos os períodos de vida. A maioria dos participantes se enquadrou na faixa compreendida entre 45-59 anos (39%), onde 17% apresentavam SM.

Analisando os resultados de todos os participantes em relação aos cinco critérios contemplados pela NCEP-ATP III para a definição de SM, sem considerar a presença ou não da SM, a circunferência abdominal (CA), a glicemia e os triglicerídeos (TG) foram os mais alterados, em 80%, 53% e 50% dos participantes, respectivamente.

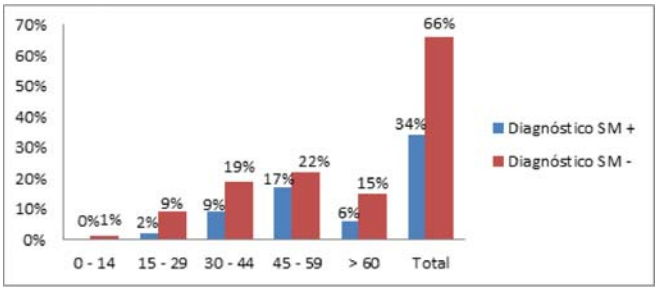


Gráfico 1. Prevalência da SM por idade. SM: Síndrome metabólica.

O Gráfico 2 apresenta a porcentagem dos indivíduos com SM, evidenciada pelos critérios alterados e por sexo. Sendo que, no sexo masculino e feminino, a CA, glicemia e TG foram os que tiveram maior porcentagem.

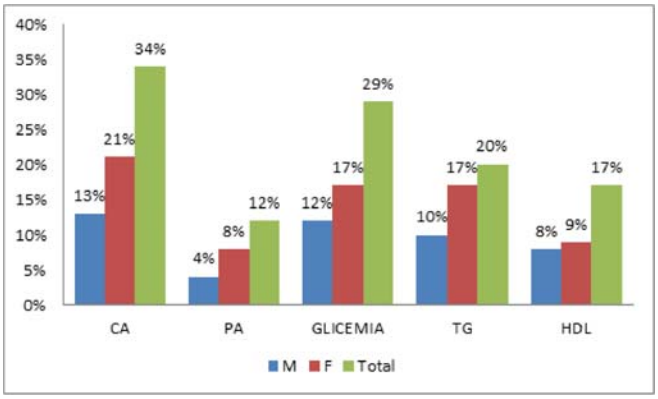


Gráfico 2. Percentual dos critérios de diagnóstico para SM
SM: Síndrome metabólica; CA: Circunferência abdominal; PA: Pressão arterial; TG: Triglicerídeos; HDL: High Density Lipoprotein.

DISCUSSÃO

A SM tem sido um quadro de contínua preocupação ao redor do mundo, haja vista que os portadores da síndrome apresentam alterações clínicas e laboratoriais que geram danos à saúde, principalmente danos cardiovasculares.[1]

Ainda que hajam critérios de diagnósticos estabelecidos, a multifatorialidade relacionada à SM, como a genética, dieta, nível de atividade física, idade e sexo, torna difícil comparar sua prevalência entre as populações. No entanto, há estimativas indicando prevalência crescente em países desenvolvidos e subdesenvolvidos.[15,16]

Neste estudo foi analisada a incidência de SM nos pacientes de rotina do LAC que fizeram exames como perfil lipídico, glicemia de jejum e que possuíam padrões de circunferência abdominal aumentados de acordo com o que é proposto pelo NCEP-ATP III. Não foram considerados dados como cor de pele, diabetes ou hipertensão.

Dados relacionados à prevalência de SM em idosos até então são divergentes. De acordo com o critério NCEP-ATP III, em um estudo norte-americano intitulado *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III), na faixa etária compreendida entre 60 e 69 anos, apresentou uma porcentagem de 43,5%, e na faixa etária superior a 69 anos foi de 42%. No Brasil, estudos de prevalência em idosos indicam taxas que variam de 30,9% a 53,4%.

No presente estudo, a taxa de idosos com SM foi de 6%, e esse percentual é justificado pelo número baixo de pacientes idosos participantes do estudo.[17]

A porcentagem de SM encontrada no presente estudo foi de 34%, semelhante àquela descrita por Salaroli et al.[1] com indivíduos entre idade de 25 a 64 anos de Vitória-ES (29,8%), utilizando os critérios da NCEP/ATP III. Nakazone et al.[18] caracterizaram 35,5% de indivíduos com SM a partir de critérios propostos por NCEP-ATPIII e IDF com o intuito de verificar a predisposição para doença cardiovascular na população.

No estudo de Barbosa et al.,[19] a prevalência de SM foi de 54,4% segundo os critérios do NCEP-ATPIII. Em outro estudo, Kubrusly et al.[9] analisaram prevalência de SM diagnosticada pelos critérios NCEP-ATP III e IDF em pacientes em hemodiálise, e sua prevalência foi de 41,7%. Na pesquisa de Oliveira et al.[15], a prevalência de SM em indivíduos com idade ≥ 25 anos foi de 30%. Rocha et al.[20] encontraram 65,3% de SM em indígenas de duas cidades no Rio Grande do Sul, com idade maior que 40 anos, e prevalência maior no sexo feminino. Maurer et al.[21] pesquisaram os critérios para diagnóstico de síndrome metabólica utilizando os propostos pelo NCEP-ATP III em uma população afro-brasileira e o resultado foi de 59,4%.

Neste estudo, CA, Glicemia, TG, HDL e PA dos indivíduos pesquisados estavam acima dos valores propostos pelo NCEP-ATP III para diagnóstico de SM, onde é necessário pelo menos três dos cinco critérios. A tríade alterada com maior frequência (22%) foi CA, Glicemia e TG. O aumento da gordura da região abdominal eleva a Glicemia e TG, reduzem os níveis de HDL e aumenta a pressão arterial.[16]

CONCLUSÃO

Neste estudo, ao se analisar a incidência de SM segundo os critérios NCEP-ATP III, pode-se concluir que foi encontrada uma alta porcentagem da síndrome nos pacientes usuários do LAC, independente do estilo de vida e doenças. O diagnóstico de SM foi associado às variáveis como a trigliceridemia, glicemia de jejum, HDL, CA e PA.

O percentual encontrado foi próximo das demais literaturas, visto que há uma deficiência de dados no país sobre a síndrome. Os outros estudos foram comparados em populações específicas que tinham uma possibilidade de contê-la. A incidência neste trabalho de 34% da SM foi considerável alta, pois foi realizada em uma população aleatória.

A dieta recomendável para portadores de síndrome metabólica compreende uma alimentação pobre em colesterol e gordura saturada e ao mesmo tempo rica em fibras, legumes e frutas. Exercício físico e dieta balanceada são fundamentais para diminuir os fatores de risco, sendo imprescindível na prevenção e no tratamento da síndrome metabólica.

Dentre os critérios da SM, foi destacada a obesidade abdominal fazendo parte de 80% de todos os pacientes, independente se a SM foi presente ou não. Resultado alarmante, já que pode estar associada com várias doenças crônicas não transmissíveis, pois a população pode estar enfrentando uma epidemia sem ao menos conhecê-la. Portanto, essa incidência demonstra a importância de identificar e controlar precocemente os fatores de riscos para agravos, principalmente cardiovasculares.

Sendo a SM uma epidemia mundial que acomete de crianças a idosos, é fundamental o envolvimento das autoridades de saúde para o conhecimento da fisiopatologia da síndrome, bem como a sua prevenção. Importantes passos para identificação de indivíduos de alto risco para a SM, o que garante um diagnóstico precoce e minimiza o impacto sobre a mortalidade decorrente de suas complicações.

Abstract

The metabolic syndrome (SM) represents the metabolic abnormality more common of the present time and also the largest responsible for cardiovascular events in the population. In spite of the importance, there is lack of epidemic data in the Brazilian population. This study had as objective evaluates the prevalence of SM in patients that use the Clinical of PUC Laboratory of Analyses - Goiás (LAC) that had in their exams lipidograma, glicemia of fast and that visually presented a high abdominal circumference. The used criteria were them proposed by the National Cholesterol Education Program. Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III). In the study it was found the prevalence of 34% diagnosed with SM, being 13% in the masculine sex and 21% in the feminine sex. It is concluded that a high percentage was found for SM in the patients that are making their routine exams in LAC, because in

the study he/she didn't have association with lifestyle and existent diseases.

Keywords
Metabolic syndrome; NCEP-ATPIII; Lipid profile; Glycemia; Abdominal circumference

REFERÊNCIAS

1. Salaroli LB, Barbosa GC, Mill JG, Molina MCB. Prevalência de síndrome metabólica em estudo de base populacional, Vitória, ES - Brasil. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2007;51(7):1143-52.
2. Pinho PM, Maria L, Machado M, Torres RDS, Moura SE. Síndrome metabólica e sua relação com escores de risco cardiovascular em adultos com doenças crônicas não transmissíveis. Rev da Soc Bras Clínica Médica. 2014;12(1):22-30.
3. Brasileiras VD. VI Diretrizes Brasileiras. VI Diretrizes Bras Hipertens - Soc Bras Cardiol. 2010;95:1-51.
4. Lyra R, Oliveira M, Lins D, Cavalcantl N, Gross JL, Maia FFR, et al. Diretrizes Sociedade Brasileira de Diabetes. Vol. 5, Diabetes Mellitus Tipo 1 E Tipo2. 2003;21-25.
5. Abeso. Diretrizes brasileiras de obesidade 2016/ABESO. 4.ed - São Paulo, SP. 2016;1-188.
6. Freitas ED, Haddad JPA, Velasquez-Melendez G. Uma exploração multidimensional dos componentes da síndrome metabólica. Cad. Saúde Pública. 2009;25(5):1073-82.
7. Pontes LM e Sousa MDSC. Nutritional status and prevalence of metabolic syndrome in amateur soccer players. Brazilian J Sport Med. 2009;15(3):185-9.
8. Sociedade brasileira de cardiologia. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. Arq Bras Cardiol. 2005;84 Suppl 1:4-28.
9. Kubrusly M, Oliveira CMC, Simões PSF, Lima R, Galdino PNR, Sousa P, et al. Prevalence of Metabolic Syndrome according to NCEP-ATP III and IDF criteria in Patients on Hemodialysis. J Bras Nefrol. 2015;37(1):72-8.
10. Souza MD, Vilar L, Andrade CB, Albuquerque R; Cordeiro LH, Campos JM, et al. Prevalência de Obesidade e Síndrome Metabólica em frequentadores de um parque. Arq Bras Cir Dig. 2015;28 Suppl 1:31-5.
11. Franco GPP, Scala LCN, Alves CJ, França GVA. Síndrome Metabólica em Hipertensos de Cuiabá - MT: Prevalência e Fatores Associados. Arq Bras Cardiol 2009;92(6):472-8.
12. Bortoletto MSS, Souza RKT, Cabrera MAS, González AD. Síndrome metabólica em estudos com adultos brasileiros: uma revisão sistemática. Espaço para a Saúde - Rev Saúde Pública do Paraná. 2014;15(4):86.
13. Freitas, et al. Metabolic Syndrome: A review on diagnostic criteria. Rev Min Enferm. 2008;12(3):403-11.
14. Sá NNB e Moura EC. Fatores associados à carga de doenças da síndrome metabólica entre adultos brasileiros. Cad Saude Publica. 2010;26(9):1853-62.
15. Oliveira EP, Souza ML, Lima MD. Prevalence of metabolic syndrome in a semi-arid rural area in Bahia. Arq Bras Endocrinol Metab. 2006; 50(3):456-65.
16. Hess S, Tramontinl J, Canuto R. Factors associated with metabolic syndrome in adults attending a nutrition outpatient clinic . Sci Med (Porto Alegre). 2014;24(1):33-8.
17. Vieira EC, Peixoto M, Silveira EA. Prevalence and factors associated with Metabolic Syndrome in elderly users of the Unified Health System. Rev Bras Epidemiol. 2014;17(4):805-17.
18. Nakazone MA, Pinheiro A, Braile MC, Pinhel MA, Sousa GF, et al. Prevalence of metabolic syndrome using NCEP-ATPIII and IDF definitions in Brazilian individuals. Rev Assoc Med Bras. 2007; 53(5):407-13.
19. Barbosa JB, Augusto A, Silva M, Ospedaliera A, Maria S. Metabolic syndrome in outpatient cardiology clinics. Artigo Original Síndrome Metabólica em Ambulatório Cardiológico. Arq Bras Cardiol 2010;94 (1):46-54.
20. Rocha AKS, et al. Prevalência da síndrome metabólica em indígenas com mais de 40 anos no Rio Grande do Sul, Brasil. Rev Panam Salud Publica 2011;29(1):41-5.
21. Maurer P, Aparecida A, Gullich DC, Retamoso VR, Ribeiro E, Freitas V, et al. Componentes para diagnóstico de Síndrome Metabólica pelo NCEP-ATP III em uma população afro-brasileira. Rev Bras Pesq Saúde, Vitória. 2016;18(4):55-60.

Correspondência
Mauro Meira de Mesquita
Av. Universitária nº 1.440. Área IV. Bloco H. Setor Universitário
74605-010 – Goiânia-GO, Brasil
mauropucgo@gmail.com

Prevalência de atipias de significado indeterminado e sua relação com o papilomavírus em uma população de Caxias do Sul

Prevalence of atypias of indetermined meaning and its relationship with papilomavirus in a population of Caxias do Sul

Jessica Knevitz Feijó[1]
Gabriela Cavagnolli[2]

Resumo
Objetivo: Analisar a prevalência dos resultados positivos para Células Escamosas Atípicas (ASC) em uma população da rede privada em Caxias do Sul e sua associação com o HPV. **Métodos:** Foram analisados resultados de exames citopatológicos do colo uterino no período de 2015 a 2017. Para presença de HPV foram avaliados os resultados histopatológicos da biópsia e de biologia molecular por reação em cadeia polimerase (PCR). **Resultados:** A prevalência de ASC foi de 2,48%, sendo que 58% das pacientes realizaram seguimento. A histopatologia mostrou prevalência de HPV, associado às lesões cervicais em 46,4% e 59,4% para ASC-US e ASC-H respectivamente. A prevalência de HPV no teste de PCR foi de 30,4%, sendo os subtipos mais prevalentes o HPV16 e 18. **Conclusão:** O percentual de exames de ASC em uma população de Caxias do Sul mostrou-se dentro dos valores adequados. Na histopatologia houve uma maior associação de ASC-H com lesões de alto grau e presença de HPV. Isso mostra a necessidade e a importância do seguimento das pacientes com resultados de ASC, principalmente para ASC-H.

Palavras-chave
Colo do útero; Neoplasias do colo do útero; Células escamosas atípicas

INTRODUÇÃO

O câncer de colo uterino é uma das neoplasias malignas mais incidentes entre as mulheres no Brasil.(1) Na região sul é o quinto em incidência entre os demais cânceres que acometem o sexo feminino.(2) A infecção por papilomavírus humano (HPV) é o principal fator de risco para ocorrência do câncer do colo de útero.(3) Na população feminina geral, a prevalência da infecção pelo HPV varia entre 2% a 44%.(4,5) É consenso que o câncer cervical apresenta elevado índice de prevenção, onde programas de rastreamento adequados podem reduzir o número de mortes por essa patologia.(6)

O papiloma vírus humano engloba um grande grupo de vírus DNA, possuindo mais de duzentos subtipos diferentes que apresentam tropismo por células epiteliais. São divididos em grupos de baixo e alto risco. Os subtipos de baixo risco (tipos 6,11,42,44,54,61,70,71,81) estão associados com lesões cutâneas benignas, como verrugas cutâneas e condilomas genitais. Já os de alto risco (tipos 16,18,31,33,35,45,51,52,56,58,59,61,66,68,73 e 82) estão fortemente associados ao câncer de colo uterino, sendo que o HPV16 e HPV18 estão presentes em 70% dos casos de neoplasia cervical.(5,7,8)

O exame citopatológico é o principal método para o diagnóstico precoce das lesões cervicais pré-neoplásicas.(9) Segundo as Diretrizes Brasileiras para o rastreamento do câncer de colo uterino,(3) o rastreio por meio do exame citopatológico deve ser realizado em mulheres a partir dos 25 até 64 anos de idade. Os dois primeiros exames devem ser realizados anualmente e, após dois resultados negativos, os próximos devem ser realizados a cada 3 anos.

A nomenclatura atual para os achados da citologia cervical é a da classificação de Bethesda 2014, que descreve células escamosas atípicas (ASC), lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL), lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL), carcinoma de células escamosas, células glandulares atípicas (AGC) e

[1]*Biomédica. Centro Universitário da Serra Gaúcha - FSG – Caxias do Sul-RS, Brasil.*
[2]*Biomédica. Universidade Feevale (Docente) – Novo Hamburgo-RS, Brasil.*

Instituição: Centro Universitário da Serra Gaúcha – FSG – Caxias do Sul-RS, Brasil.

Recebido em 14/02/2018
Artigo aprovado em 23/08/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800676

adenocarcinoma.[8,10] ASC é definida como alterações citológicas que sugerem uma lesão intraepitelial, porém são insuficientes para uma interpretação definitiva.[11,12] Essa categoria é subdividida em ASC-US (células escamosas atípicas de significado indeterminado, possivelmente não neoplásico) e ASC-H (células escamosas atípicas onde não é possível excluir lesão intraepitelial de alto grau).[12]

ASC representa a atipia citológica mais referida dentre os laudos alterados de resultados citopatológicos do colo uterino. Como esse achado varia muito de acordo com o observador, e como indicativo de boa qualidade do laboratório, a frequência da categoria ASC não deve ultrapassar 5% do total de exames do laboratório e não deve exceder duas a três vezes o número das lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau do serviço de citopatologia.[12,13]

Para acompanhamento de mulheres com diagnóstico de ASC, vêm sendo utilizados testes de biologia molecular para detecção do DNA-HPV através dos métodos de captura híbrida e reação em cadeia da polimerase (PCR) vinculados ao exame citopatológico; contudo, no Brasil, a conduta preconizada é a repetição da citologia e realização de colposcopia e biópsia.[9,14] Estudos mostram que cerca de 55% de mulheres com ASC apresentam resultados positivos para HPV, e cerca de 10% a 20% das mulheres com HPV positivo tinham lesão pré-câncer ou câncer.[15]

O objetivo do estudo consiste em verificar a prevalência de resultados positivos para ASC na população atendida em um laboratório de Caxias do Sul. Dentre os laudos citopatológicos de ASC, analisar a positividade para HPV no colo uterino e verificar os principais subtipos de HPV associados aos casos de ASC positivos para HPV.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo retrospectivo transversal observacional, que avaliou a prevalência do resultado citopatológico de ASC e a associação para HPV, incluindo o subtipo mais prevalente em mulheres de Caxias do Sul. A amostra consistiu de todos os resultados alterados de pacientes submetidas ao exame citopatológico do colo uterino no período de janeiro de 2015 a janeiro de 2017. As análises dos prontuários dos pacientes incluíram: resultado citopatológico, idade e presença de HPV associados ao diagnóstico citopatológico de ASC. Foram excluídas pacientes gestantes pelo fato de serem susceptíveis a resultados falso-positivos para ASC devido às alterações gestacionais.[11] Também foram excluídos laudos incompletos devido a amostras insatisfatórias para avaliação. O laboratório realizou no período 30.795 exames citopatológicos. Após os critérios de exclusão, o número de pacientes com resultado de exame alterado no período de dois anos foi de 1.120.

No laboratório de citopatologia, os profissionais responsáveis pela realização da leitura dos exames citopatológicos foram médicos citopatologistas e citotécnicos, sendo que os médicos citopatologistas foram os responsáveis pela revisão dos exames citopatológicos suspeitos e positivos para lesão intraepitelial. O resultado do exame citopatológico foi relatado de acordo com o sistema de Bethesda 2014, que define ASC-US como achados com alterações discretas com aumento da área nuclear de duas a três vezes o de uma célula intermediária normal, hipercromasia nuclear e pequenas irregularidades da cromatina.[8,10] Já as alterações de ASC-H em geral se relacionam com a presença de pequenos grupos de células pequenas, de relação núcleo-citoplasma relativamente alta.[15,16] Todos os exames citopatológicos avaliados foram corados pela técnica convencional de Papanicolaou.[15]

Para a detecção da presença de HPV foi avaliada a realização dos exames de biologia molecular por reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, e do exame histológico nos casos em que foi feita biópsia dirigida pela colposcopia. Os resultados da biologia molecular foram relatados de acordo com o risco de câncer cervical: positivo para HPV16, mas um ou mais outros tipos de HPV de alto risco (HPV18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 ou 68), negativo para qualquer tipo de HPV de alto risco, mas positivo para um ou mais tipos de HPV de baixo risco (HPV6, 11, 26, 40, 42, 53, 54, 55, 61, 62, 64, 66, 67, 69, 70-73, 81-84, e 39 ou 89), ou negativo para HPV. O laudo da biópsia foi relatado de acordo com a classificação de Bethesda 2014, que classifica as lesões cervicais em lesões intraepiteliais escamosas de alto e baixo grau, com alterações compatíveis com HPV.[16,17]

A construção do banco de dados e a análise estatística foram realizadas através do software SPSS Statistic Data 20 (StatisticalPackage for Social Sciences - Chicago, IL, 2008). As variáveis quantitativas com distribuição simétrica foram apresentadas em média e desvio padrão (DP), e as variáveis qualitativas serão apresentadas em valores absolutos e percentuais.

O projeto foi submetido à aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro Universitário da Serra Gaúcha, segundo as Normas de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (Res. 466 / 12) do Conselho Nacional de Saúde, registrado sob o número 2.300.292/2017.

RESULTADOS

No período de janeiro de 2015 a janeiro de 2017 foram realizados 30.795 exames de citologia oncótica do colo uterino, sendo a prevalência de ASC de 2,48%. Do total de exames do laboratório e após os critérios de exclusão, 1.120 exames mostraram resultados alterados conforme a Tabela 1. Dos 1.120 resultados alterados, 57,7% (n=647), idade

média 35,4, foram positivos para ASC-US, e 8,7% (n=97), idade média 42,5, foram positivos para ASC-H. Das pacientes com exame inicial mostrando ASC, 42% (n=313) não realizaram exames de seguimento no laboratório estudado e 58% (n=431) continuaram com acompanhamento, sendo 86,7% (n=374) resultados de ASC-US e 13,3% (n=57) de ASC-H.

Tabela 1 - Resultados citopatológicos alterados

1120	n	(%)	Idade média/DP*
ASC-US	647	57,7	35,4 ±12,8
ASC-H	97	8,7	42,5 ±13,0
Baixo grau	296	26,4	30,3 ±10,4
Alto grau	75	6,7	36,1 ±12,6
AGC	4	0,4	42,5 ±10,4
Carcinoma	1	0,1	37,0

DP = Desvio padrão.ASC-US: Células escamosas atípicas possivelmente não neoplásicas. ASC-H: Células escamosas atípicas onde não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau. AGC: Células glandulares atípicas

Das pacientes com acompanhamento verificamos que 36,4% (n=136) com ASC-US e 56,1% (n=32) com ASC-H fizeram exames de biópsia dirigida por colposcopia. O total de 10,2% (n=38) ASC-US e 14% (n=8) ASC-H realizou teste de biologia molecular por PCR para acompanhamento através do diagnóstico de HPV e 58,8% (n=220) ASC-US e 40,4% (n=23) ASC-H realizaram outros tipos de exames como repetição da citologia e/ou colposcopia.

Os resultados do seguimento de biópsia e biologia molecular estão representados na Tabela 2. Do total de biópsias, 32,4% (n=44) de pacientes com ASC-US e 18,8% (n=6) ASC-H mostraram lesão intraepitelial escamosa de baixo grau com presença de alterações compatíveis com HPV; 14% (n=19) de ASC-US e 40,6% (n=13) de ASC-H mostraram lesão intraepitelial escamosa de alto grau com alterações compatíveis com HPV. A prevalência de HPV para ASC-US e ASC-H na histopatologia, não considerando as lesões associadas, foi de 46,4% (n=63) e 59,4% (n=19). Do total de pacientes com ASC que realizaram o teste de biologia molecular 30,4% mostraram resultados positivos para algum tipo de HPV, sendo os mais prevalentes os subtipos de alto risco HPV16 e ou HPV18.

Tabela 2 - Resultados dos seguimentos de biópsia e de biologia molecular

	ASC		**ASC-US**		**ASC-H**	
	431		**374**		**57**	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Biópsia	**168**	**39**	**136**	**36,4**	32	**56,1**
LSIL/HPV	50	29,8	44	32,4	6	18,8
HSIL/HPV	32	19,0	19	14	13	40,6
Carcinoma	1	0,60	1	0,7	-	-
Normal	10	6,0	8	5,9	2	6,3
Cervicite, metaplasia	75	44,7	64	47,1	11	34,4
Biologia Molecular (PCR)	**46**	**10,7**	**38**	**10,2**	**8**	**14**
HPV 16	6	13,0	6	15,7	-	-
HPV 16/18	4	8,7	2	5,3	2	25
HPV <risco	4	8,7	3	7,9	1	12,5
Negativo	32	69,6	27	71,1	5	62,5

ASC = Células escamosas atípicas. ASC-US: Células escamosas atípicas possivelmente não neoplásicas. ASC-H: Células escamosas atípicas onde não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau. LSIL: Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau. HSIL: Lesão intraepitelial escamosa de alto grau. HPV: Papilomavírus humano. PCR: Reação em cadeia da polimerase

DISCUSSÃO

Para este estudo, a prevalência de ASC foi de 2,4% e a proporção de ASC para LSIL foi de 2,51%. Este percentual condiz com os achados de Dvorak et al., que relataram uma prevalência de ASC de 3,8% e proporção de ASC para LSIL de 1,76.[18] Também condiz com o estudo de Yarandi et al., que encontraram uma prevalência de 2,5% e uma proporção de 3,46 em relação à LSIL. Essa taxa indica um parâmetro de qualidade do laboratório.[19]

Estudos americanos mostram que resultados interpretados como ASC possuem cerca de 5% a 17% de chance de ter lesão de alto grau confirmado por biópsia, enquanto que, em ASC-H, essas lesões são identificadas em 24% a 94% dos casos.[20,21] Os resultados do presente estudo se mostraram de acordo com esses valores, onde ASC se associou a lesão de alto grau em 19% e ASC-H em 40,6% dos casos. Também é semelhante ao estudo de Sherman et al., que encontraram uma prevalência de ASC-H associado a lesões de alto grau em 50% dos casos.[22] É válido ressaltar que a maioria dos casos de ASC-US biopsiados não apresentou lesão pré-neoplásica, mostrando apenas processos inflamatórios e reacionais, como cervicite e metaplasia. Já o contrário ocorreu com ASC-H, onde a maioria apresentou lesão de alto grau. Isso mostra a importância do acompanhamento dessas pacientes visto o risco de evoluir para lesões neoplásicas.

O resultado da histopatologia caracteriza a LSIL como a manifestação morfológica da infecção pelo HPV, enquanto que a HSIL, além da manifestação da infecção pelo HPV, seria a lesão precursora do carcinoma do colo uterino. Essas manifestações morfológicas são caracterizadas pela presença de coilócitos e multinucleação.[23,24] No presente estudo, todas as lesões intraepiteliais de baixo e alto grau estavam associadas com os efeitos morfológicos compatíveis com HPV, sendo essa prevalência de 46,4% e 59,4% para ASC-US e ASC-H.

Estudos mostram que o teste de DNA- HPV para mulheres com resultado citológico de ASC é útil na determinação do risco de lesões cervicais pré-neoplásicas e cancerosas. Um resultado positivo para HPV de alto risco está associado a uma maior chance de lesões cervicais.[25] Contudo, observou-se uma baixa porcentagem de mulheres que realizaram o teste molecular para HPV como seguimento

para o diagnóstico de ASC. Isso pode ser explicado devido ao fato de que, no Brasil, a conduta preconizada é a repetição da citologia e colposcopia e, quando essa se mostra alterada, a realização da biópsia.[3] Testes de biologia molecular não são comumente utilizados devido ao alto valor de custo quando comparados com a colposcopia. Este fator limita a utilização destes testes no nosso meio, já o contrário ocorre nos Estados Unidos, onde a colposcopia é muito mais dispendiosa do que os testes moleculares.[26]

Nas pacientes que realizaram o teste de PCR, a prevalência de infecção por HPV mostrou que 30,4% das pacientes com ASC possuíam o vírus, sendo o maior número de subtipos de alto risco (HPV16/18); esse resultado é semelhante com o achado por Nonnenmacher et al., que, em um estudo em Porto Alegre, acharam a prevalência de 27% de HPV.[5] Também condiz com os achados de Teixeira et al., realizado também no sul do Brasil, que encontraram uma prevalência de 27,5%, sendo o HPV18 o principal tipo viral encontrado.[14]

Destacamos que houve, dentre os casos de diagnósticos de ASC, um elevado número de pacientes (42%) que por algum motivo não realizaram exames de seguimento. Considerando que o câncer de colo uterino é a neoplasia com maior possibilidade de prevenção devido aos vários métodos de rastreio apresentados, fica evidente a necessidade de busca das pacientes, principalmente para as que já apresentaram resultados citopatológicos alterados, como as referidas no estudo atual.[6] Com os resultados obtidos para este estudo, pode-se reforçar as pacientes sobre a necessidade de acompanhamento após um resultado citopatológico de ASC, principalmente de ASC-H, visto que esse achado apresenta um elevado risco de evolução para neoplasia cervical.[13]

CONCLUSÃO

O percentual de exames de ASC em uma população de Caxias do Sul mostrou-se dentro dos valores adequados, assim como uma maior proporção de ASC-US em relação a ASC-H. O teste de PCR mostrou uma prevalência de HPV de 30,4%, sendo os genótipos mais prevalentes os de alto risco HPV16 e 18. Na histopatologia houve uma maior associação de ASC-H com lesões de alto grau e presença de HPV, enquanto que, para ASC-US, houve um maior número de reações inflamatórias e processos reacionais. Isso mostra a importância do seguimento das pacientes com resultados de ASC, principalmente para ASC-H, onde a associação com lesões pré-neoplásicas é maior. Vale ressaltar que houve um grande número de mulheres que não realizaram seguimento, o que nos mostra a necessidade de busca dessas pacientes, visto uma acentuada evolução desses achados para lesões pré-neoplásicas.

Abstract

Objective: *To analyze the prevalence of positive results for ASC in a private network population in Caxias do Sul and its association with HPV.* ***Methods:*** *The results of cytopathological examinations of the uterine cervix were analyzed between 2015 and 2017. For the presence of HPV, the histopathological results of biopsy and molecular biology were evaluated by polymerase chain reaction (PCR).* ***Results:*** *The prevalence of ASC was 2.48%, and 58% of the patients were followed up. Histopathology showed a prevalence of HPV, associated with cervical lesions in 46.4% and 59.4% for ASC-US and ASC-H respectively. The prevalence of HPV in the PCR test was 30.4%, with HPV16 and 18 being the most prevalent subtypes.* ***Conclusion:*** *The percentage of ASC exams in a population of Caxias do Sul was within the appropriate range. In the histopathology there was a greater association of ASC-H with high grade lesions and presence of HPV. This shows the need and importance of follow-up of patients with ASC results, mainly for ASC-H.*

Keywords

Cervix uteri; Uterine cervical neoplasms; Atypical squamous cells

REFERÊNCIAS

1. Galão AO, Lima LFR, Vettorazzi J, Mattos J C, Naud P. Prevalência e seguimento de exame citopatológico de colo uterino com atipias em células escamosas de origem indeterminada em um hospital universitário brasileiro. Revista HCPA. 2012;32(3):296-302.
2. Figueredo MC, Melo JJM, Segati KD. Prevalência de lesões precursoras para o câncer de colo do útero nas regiões do Brasil e sua relação com a cobertura do programa de rastreamento. Femina. 2014;42(6):296-302.
3. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero - INCA. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. - 2ª ed. rev. atual. - Rio de Janeiro; 2016.
4. INCA. Colo do Útero - HPV e câncer - Perguntas mais frequentes. Disponível em http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo_utero/definicao. Acesso em: 1 maio. 2017.
5. Nonnenmacher B, Breitenbacha V, Villab LL, Prollac JC, Bozzetti MC. Identificação do Papilomavírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. Rev. Saúde Pública. 2002;36(1):95-100.
6. Hughes SA, Sun D, Gibson C, Bellerose B, Rushing L, Chen H, et al. Managing atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS): human papillomavirus testing, ASCUS subtyping,or follow-up cytology? Am J Obstet Gynecol. 2002;186(3):396-403.
7. Ayres ARG, Silva G. Prevalência de infecção do colo do útero pelo HPV no Brasil: revisão sistemática. Rev. Saúde Pública. 2010; 44(5): 963-74.
8. Araújo RS. Citologia cervicovaginal passo a passo. 2ª edição. Rio de Janeiro: Di livros, 2012.
9. Gontijo RC, Derchain SFM, Roteli-Martins C, Sarian LOZ, Bragança JF, Zeferino LC, et al. Avaliação de Métodos Alternativos à Citologia no Rastreamento de Lesões Cervicais: Detecção de DNA-HPV e Inspeção Visual. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. [online]. 2004; 26(4): 269-75. Available from:http://dx.doi.org/10.1590/S0100-72032004000400 0002
10. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al; Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA. 2002;287(16):2114-9.
11. Dufloth RM, Vieira LF, Xavier JJC, Vale DB, Zeferino LC. Frequência de células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS) em mulheres grávidas e não grávidas. Rev Bras Ginecol Obstet.2015;37(5):229-32.

12.Lodi CTC, Lima MIM, Meira HRC, Souza OL, Lucena AAS, Guimarães MVMB, et al. Células escamosas atípicas cervicais: conduta clínica. Femina. 2012; Jan/Feb,40(1):37-42.

13. Lima DNO. Atlas de citopatologia ginecológica- Brasília: Ministério da Saúde. 2012;204.

14. Teixeira LO, Vieira VC, Germano FN, Gonçalves CV, Soares MA, Martinez AMB. Prevalência dos tipos de Papilomavírus Humano em mulheres. Medicina Ribeirão Preto, 49(2):116-23, 2016.

15. Associação Brasileira de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia - Células escamosas atípicas ALTS - ASCUS/LSIL triage study. [acesso em 29 de outubro de 2017]. Disponível em: http://colposcopiasp.org.br/celulas-escamosas-atipicas-alts-ascuslsil-triage-study/.

16. Nayar R, Wilbur DC. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. 3. ed. Switzerland; 2015.

17. Wheeler CM, Hunt WC, Cuzick J, Langsfeld E, Robertson M, Castle PE; New Mexico HPV Pap Registry Steering Committee. The influence of type-specific human papillomavirus infections on the detection of cervical precancer and cancer: A population-based study of opportunistic cervical screening in the United States. Int J Cancer. 2014;135(3):624-34.

18. Dvorak KA, Finnemore M, Maksem JA. Histology correlation with atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS) and low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) cytology diagnoses: An argument to ensure ASCUS follow-up that is as aggressive as that for LSIL. Diagn Cytopathol. 1999;21(4):292-5.

19. Yarandi F, Mood NI, Mirashrafi F, Eftekhar Z. Colposcopic and histologic findings in women with a cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 2004;44(6):514-6.

20. Wright TC, Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 consensus guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. JAMA 2002;287:2120 -9.

21. Rowe LR, Aldeen W, Bentz JS. Prevalence and typing of HPV DNA by hybrid capture II in women with ASCUS, ASC-H, LSIL, and AGC on ThinPrep® Pap tests. Diagn Cytopathol. 2004 Jun;30(6):426-32.

22. Sherman ME, Castle PE, Solomon D. Cervical cytology of atypical squamous cells-cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion(ASC-H): characteristics and histologic outcomes. Cancer. 2006;108(5):298-305.

23. Di Loreto CE, Alves VAF. Patologia das Lesões Relacionadas ao HPV no Trato Anogenital. In: Bibbo M. & Moraes Filho A. Lesões Relacionadas à Infecção por HPV no Trato Anogenital, Revinter. 1ª. ed. Rio de Janeiro; 1998.

24. Godoy AEG. Expressão da p16 ink4 em lesões precursoras de baixo grau do carcinoma escamoso do colo uterino - estudo prospectivo de seguimento. Análise da expressão gênica. Caxias do Sul. Tese [doutorado em biotecnologia] - Universidade de Caxias do Sul, 2010.

25. Moarcas M, Georgescu IC, Moarcas R, Badea M, Cîrstoiu M. HPV-DNA testing for patients with ASC-US helps identify the women who have a high risk for precancerous cervical lesions. J Med Life. 2014;7 Spec No. 3:78-80.

26. Smith AE, Sherman ME, Scott DR, Tabbara SO, Dworkin L, Olson J, et al. Review of the Bethesda System atlas does not improve reproducibility or accuracy in the classification of atypical squamous cells of undetermined significance smears. Cancer. 2000;90(4):201-6.

Correspondência
Jessica Knevitz Feijó
Rua Os Dezoito do Forte, 2366
95020-472 – Caxias do Sul-RS, Brasil

Aplicabilidade do ensino de microbiologia para ciências da saúde

Applicability of the microbiology teaching for health sciences

Pedro Agnel Dias Miranda Neto[1]
Hortência Biatriz de Melo Santana[2]

Resumo
Objetivo: Mostrar a aplicação da microbiologia e as formas como esta é subdividida durante a graduação na área das ciências da saúde. **Métodos:** Essa foi uma pesquisa bibliográfica, baseada na busca de dados curriculares sobre o ensino de microrganismos, nos cursos de graduação do Piauí - Brasil. **Resultados:** O ensino superior é o nível mais elevado do sistema educacional, referindo-se normalmente a uma educação realizada em universidades, e o ensino de microbiologia é um desafio para professores de ciências nos diversos níveis do ensino brasileiro. **Conclusão:** Concluiu-se a necessidade de métodos e materiais alternativos na elaboração e realização de aulas práticas.

Palavras-chave
Microbiologia; Educação em saúde; Instituições de ensino superior

INTRODUÇÃO

O ensino terciário, educação superior ou ensino superior é o nível mais elevado do sistema educacional, referindo-se normalmente a uma educação realizada em universidades, faculdades, institutos politécnicos, escolas superiores ou outras instituições que conferem diplomas profissionais.(1) Durante muitos anos, a docência universitária não constituía objeto privilegiado da crítica de especialistas, prevalecendo a visão de que "quem sabe, sabe ensinar". Neste sentido, a formação pedagógica era considerada como um processo "que dizia respeito a outros níveis".(2)

Tradicionalmente, o Sistema Educacional Brasileiro e os seus diferentes níveis de ensino são identificados como excludentes, refletindo as desigualdades econômicas, sociais, políticas e culturais do país.(3) Saviani (2007) apud Santos e Cerqueira (2009) ensina que a história da educação brasileira registra uma evolução marcada pelas desigualdades, desde tempos remotos.

O ensino de microbiologia é um desafio para professores de ciências nos diversos níveis de ensino. Desafios como, por exemplo, ensinar e utilizar recursos didáticos possíveis e disponíveis para planejar metodologias de ensino na rede pública e privada.

Formiga entende que: *"De forma sistemática ou não, verbal ou não, consciente ou inconsciente, intencional ou não, todos somos responsáveis quando transmitimos valores, atitudes, tabus, preconceitos e estereótipos".*(4)

Este estudo teve por objetivo mostrar a aplicação da microbiologia e as formas como essa é subdividida na grade curricular de curso de graduação das ciências da saúde no estado do Piauí, Brasil. Para alcançar o objetivo proposto, foi realizada a pesquisa bibliográfica em artigos científicos, livros didáticos e anais de congressos. Essa pesquisa foi realizada através das plataformas online de ensino: Scielo e Google acadêmico e, para o levantamento da subdivisão do ensino de microrganismo no ensino superior, foi acessado site de instituições de ensino superior do Piauí.

DESENVOLVIMENTO

Ensino superior no Brasil

O ensino superior no Brasil teve início com a chegada da família real portuguesa em 1808, em que foram fundadas as primeiras escolas de nível superior no país. Mesmo após a independência política em 1822, não houve mudança no formato do sistema de ensino, nem sua ampliação ou diversificação. E, até o final do século XIX, existiam apenas 24 estabelecimentos de ensino superior no país com cerca de 10 mil estudantes. A partir daí, a iniciativa privada criou seus próprios estabelecimentos de ensino superior graças

[1]*Mestre em Ciências / Faculdade Pitágoras / Faculdade Mauricio de Nassau.*
[2]*Graduanda em Biomedicina / Universidade CEUMA.*

Instituição: Faculdade Pitágoras Curso de Biomedicina.

Recebido em 03/02/2018
Artigo aprovado em 23/08/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800672

à possibilidade legal disciplinada pela Constituição da República (1891).[5]

Há um reconhecimento crescente referente à necessidade de preparar o aluno na capacidade de pensar e resolver novos problemas. Assim, iniciativas que vêm sendo tomadas por governos de diversos países a fim de promover debates e implementar uma política educacional que assegure o desenvolvimento das habilidades criativas dos estudantes são de grande valor.[5]

Foi durante a Primeira Guerra Mundial que houve a necessidade de se estabelecerem meios de minimizar as doenças infecciosas, deixando os exércitos entregues só ao massacre das armas, sendo desarmados pela pandemia da gripe espanhola, que ceifou cerca de 21 milhões de vidas, impunemente, em 1989. No Brasil, o saldo trágico de óbitos pôs a nu a incapacidade dos médicos de lidarem com aquela espécie de inimigo ainda invisível aos microbiologistas e explicitou a precariedade dos serviços sanitários e hospitalares.[6] Diante desse contexto, o ensino da Microbiologia iniciou no Brasil em 1946, cujo idealizador e fundador do Instituto de Microbiologia foi o professor Paulo de Góes. Em 1951, visando à profissionalização nacional da Microbiologia, foi oferecido o primeiro Curso de Atualização e Revisão em Métodos de Microbiologia e Imunologia, o qual foi mantido até 1992. Com o objetivo de melhorar o ensino de microbiologia no país, em 1953 foi criada a pós-graduação *lato sensu*, especialização em Microbiologia e Imunologia, com duração de 10 meses, como forma de capacitar professores universitários.[7]

Nota-se atualmente uma dificuldade para o ensino teórico-prático de Ciências em geral, sendo que Vieira et al., em seu estudo, questionaram professores de ensino de Ciências de escolas públicas, que apontaram como as maiores dificuldades no ensino de microbiologia a falta de recursos para ministrar o conteúdo, abordagem breve do conteúdo em livros didáticos, sendo este o único método de ensino utilizado, falta de tempo de elaboração de aulas práticas e número excessivo de alunos.[8]

Objetivos do ensino de microbiologia

O estudo da microbiologia é essencialmente um curso de biologia avançado onde se estudam os microrganismos. Estes podem ser divididos em duas principais categorias: microrganismos acelulares ou partículas infecciosas (vírus e príons) e microrganismos celulares (bactérias arqueanas, protozoários e alguns tipos de algas e fungos). Os primeiros microrganismos a serem observados pelo homem foram as bactérias e protozoários.[9] A teoria dos germes causando doenças é a mais importante contribuição da ciência da microbiologia para o bem-estar geral da população mundial, sendo talvez a ajuda mais importante de qualquer disciplina cientifica moderna.[10] É por essa razão que as atividades práticas de microbiologia são de extrema importância para que o aluno possa compreender, interpretar e empoderar-se do conteúdo apresentado. Além disso, as práticas despertam o interesse do educando por tratá-lo como agente, motivando-o a observar, interpretar, formular hipóteses e despertar seu julgamento crítico, além de despertar o interesse pelo conhecimento científico.[11]

Garcia (2005) *apud* Kimura, et al. (2013): "*A escola é um espaço formativo e a educação uma prática de formação da pessoa, é necessário que este espaço não se limite somente ao repasse de informações sobre um determinado assunto. É importante que a escola tenha por missão contribuir para que o aluno desenvolva habilidades e competências que lhe permitam trabalhar as informações, ou seja, selecionar, criticar, comparar, elaborar novos conceitos a partir dos que se tem*".[12]

Divisões da microbiologia

O estudo da microbiologia é abrangente, por conseguinte ela pode ser estudada de forma especializada com foco em uma determinada categoria de microrganismo, tais como: bacteriologia, virologia, protozoologia, micologia e ficologia. Devido à abrangência dos microrganismos, outras áreas profissionais na microbiologia estão relacionadas ao estudo da microbiologia aplicada, onde os conhecimentos da microbiologia são aplicados a diferentes aspectos profissionais da sociedade.[9]

Existem muitos campos de aplicação da microbiologia, como: microbiologia ambiental, microbiologia do solo, microbiologia de alimentos, microbiologia industrial e microbiologia médica ou clínica. Estas são algumas das subdivisões da microbiologia na sua forma aplicada de ação. A microbiologia médica ou clínica é o foco do nosso estudo e estuda os microrganismos patogênicos para o homem, para a cavidade oral (Microbiologia oral) e animais (Microbiologia Animal ou Veterinária). Este campo de aplicação está ligado ao controle e prevenção das doenças, associado às práticas asséptica, antibioticoterapia, quimioterapia e imunização, bem como à epidemiologia ou epizootiologia e aos métodos de diagnóstico das doenças infecciosas.

Microbiologia aplicada à saúde

O profissional da área da saúde é uma pessoa que trabalha em uma profissão relacionada às ciências da saúde, onde adquiriu habilidades necessárias à recuperação e manutenção da mesma. Entre os diversos profissionais da área da saúde incluem-se os nutricionistas, médicos, enfermeiros, fisioterapeutas, osteopatas, educadores físicos, assistente social, fonoaudiólogos, odontólogos, terapeutas

ocupacionais, psicólogos, biomédicos, farmacêuticos, entre outros. Durante o curso de graduação, a microbiologia é vista em diversas divisões conforme a grade curricular e/ou foco profissional.

A falta de conexão entre a microbiologia e o cotidiano dificulta o aprendizado. Torna-se necessário o desenvolvimento de estratégias e tecnologias de ensino-aprendizagem que auxiliem o professor na tarefa de estimular os estudantes para o conhecimento dos microrganismos, assim como sua relação com a vida cotidiana que possibilita o despertar do aluno para a conscientização da aplicabilidade desta ciência.[11]

Para as ciências da saúde, cabe ao laboratório de microbiologia ser estruturado adequadamente para a realização de procedimentos necessários para o isolamento e identificação correta dos mais variados microrganismos.[13]

No Piauí, os microrganismos são vistos durante a graduação na área das ciências da saúde, nos seguintes cursos: Biomedicina, Ciências Biológicas, Farmácia, Fisioterapia, Medicina, Medicina Veterinária, Nutrição e Odontologia (Quadro 1). O quadro mostra a subdivisão da microbiologia para o estudo dos microrganismos conforme o foco do curso. Sendo estudado de forma geral ou aplicada, dependendo do objetivo prático de cada profissão, observa-se qual curso cujo foco principal é isolamento e identificação de microrganismo, pois a microbiologia é vista em diversas divisões, diferente de cursos que apenas devem ter uma base para o reconhecimento preliminar no diagnóstico clinico.

Métodos de ensino

Durante os últimos anos, o incremento de procedimentos laboratoriais na área microbiológica e biotecnológica elevou os preços de materiais como vidrarias, meios de cultura, equipamentos e outros. Isso tem dificultado a aquisição de materiais e a manutenção de laboratórios de microbiologia em instituições de ensino, principalmente em faculdades e centros universitários, fazendo com que o ensino superior, em muitos casos, seja trabalhado apenas de modo teórico, inviabilizando o aprendizado prático.[5]

Fica assim perceptível que grande parte das escolas do Brasil não apresenta recursos disponíveis para equipar um laboratório de ciências e nem livros atualizados que contenham informações completas acerca da microbiologia.

A carência de material didático e a falta de salas ou laboratórios especiais para o ensino de microbiologia podem e devem ser sobrepujadas. Para isso, é preciso que o docente transponha essas dificuldades, utilizando material de fácil acesso e baixo custo, possibilitando ao aluno uma participação mais efetiva na construção de seu próprio conhecimento.[12]

E para montagem de um laboratório de microbiologia devem-se observar: instalações físicas, recursos materiais e humanos, controle de qualidade, reativos utilizados em microbiologia e um controle administrativo e financeiro.[13]

Tabela 1 - Disciplina referente ao ensino de microrganismos em cursos de saúde de instituições pública e privadas do Piauí

	Biomedicina	Ciências Biológicas	Enfermagem	Fisioterapia	Farmácia	Medicina	Medicina Veterinária	Nutrição	Odontologia
Microbiologia	X	X	X		X	X		X	X
Bacteriologia	X								
Micologia	X	X			X				
Virologia	X				X				
Microbiologia Clinica	X					X			
Microbiologia Oral									X
Microbiologia de Alimentos								X	
Parasitologia	X	X	X		X	X		X	X
Parasitologia Clinica	X			X	X				
Microbiologia Aplicada			X	X			X		
Parasitologia Aplicada							X	X	
Microbiologia e Higiene dos Alimentos								X	

Fonte: dados coletados em sites de instituições de ensino do Piauí.
Obs.: em alguns cursos a microbiologia é estudada conjuntamente com a imunologia.

CONCLUSÕES

Portanto, faz-se necessária a utilização de métodos e materiais alternativos para elaboração e realização de aulas práticas laboratoriais de microbiologia refletindo os aspectos teóricos, observando: atualidade, ética, responsabilidade socioambiental, criatividade, pesquisa, autonomia e baixo custo. E a peculiaridade do ensino de microbiologia é a necessidade de atividades que admitam a percepção do universo de organismos infinitamente pequenos. Sendo as atividades práticas fundamentais para a compreensão, interpretação e assimilação dos conteúdos.

Abstract

Objective: *The objective of the work showed the application of the microbiology and the forms as this one it is subdivided during the graduation in the area of the sciences of the health.* ***Methods:*** *This was a bibliographical inquiry based on the search of data curriculares on the microorganisms teaching, in the degree course of the Piauí - Brazil.* ***Results:*** *The superior teaching is the most elevated level of the education system, referring normally to an education carried out in universities, and the microbiology teaching is a challenge for teachers of sciences in several levels of the Brazilian teaching. The objective of the work showed the application of the microbiology and the forms as this one it is subdivided during the graduation in the area of the sciences of the health.* ***Conclusion:*** *There was ended the necessity of methods and alternative materials in the preparation and realization of practical classrooms.*

Keywords

Microbiology; Health education; Higher education institutions

REFERÊNCIAS

1. Wikipédia. Enciclopédia livre. Publicado em 24 de agosto de 2013. Disponível em < http://pt.wikipedia.org/wiki/Ensino_superior>. Acesso em 24 out. 2013.
2. Oda W, Delizoicov D. Docência no Ensino Superior: As Disciplinas Parasitologia e Microbiologia na Formação de Professores de Biologia. Revista Brasileira de Pesquisa em Educação em Ciências. 2011;11(3):101-21.
3. Santos AP, Cerqueira EA. Ensino Superior: trajetória histórica e políticas recentes. In: IX Colóquio Internacional sobre Gestão Universitária na América do Sul, Florianópolis-Brasil, 2009.
4. Formiga LCD. Ensino, Pesquisa e Ética na Microbiologia Médica. Publicado no Boletim - Sociedade Brasileira de Microbiologia - Notícias. 1998. Jul;21: 3-4.
5. Barbosa FFH, Barbosa LJPL. Alternativas metodológicas em microbiologia - viabilizando atividades práticas. Revista de Biologia e Ciências da Terra.2010;10(2):134-43.
6. Benchimol JL. A instituição da microbiologia e a história da saúde pública no Brasil. Ciência & Saúde Coletiva. 2000;5(2):265-92.
7. Cabral MC. História do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes. 20__. Disponível em <http:// www.microbiologia.ufrj.br/conheca-o-instituto-de-microbiologia-paulo-goes/historia-do-instituto-de-microbiologia-paulo-de-goes>. Acesso em 22 mar. 2014.
8. Vieira CAC, Campois TG, Gullich RIC, Oliveira KMP. O Ensino de Microbiologia em Foco: Metodologias e práticas articuladas na educação básica pública e privada na perspectiva dos professores de ciências. In: 25º Congresso Brasileiro de Microbiologia - Área: Educação em Microbiologia, Porto de Galinhas - PE/ Brasil. Local: Enotel Hotels & Resort S/A. 2009. Disponível em <http://sbmicrobiologia.org.br/pdf/cdsbm/resumos/R1086-1.html>. Acesso em 15 maio. 2014.
9. Engelkirk PG, Duben-Engelkirk J. Microbiologia para as Ciências da Saúde. Traduzido por Eiler Fritsch Toros. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.
10. Portal Educação. Diagnóstico de Vírus. - Campo Grande: Portal Educação, 2012.
11. Silva MS, Bastos SND. Formação Continuada de Professores: O ensino da microbiologia através de recursos pedagógicos alternativos. In: VIII Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências. Atas do VIII Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências. Universidade Estadual de Campinas, 2011. Disponível em <www.nutes.ufrj.br/abrapec/viiienpec/resumos/R0120-2.pdf>. Acesso em 15 maio. 2014.
12. Kimura AH, Oliveira GS, Scandorieiro S, Souza PC, Schuruff PA, Medeiros LP, et al. Microbiologia para o Ensino Médio e Técnico: contribuição da extensão ao ensino e aplicação da ciência. Revista Conexão UEPG - Ponta Grossa. 2013. jul/dez; 2(9): 255-67. Disponível em: <http://www.revistas2.uepg.br/index.php/conexao>. Acesso 11 abr. de 2014.
13. Santos Filho L. Manual de Microbiologia Clínica. 4. Ed - João Pessoa: Editora Universitária/UFPB, 2006. Med. 2014 Sep-Oct; 28(5): 1575-9. doi: 10.1111/jvim.12405.

Correspondência

Pedro Agnel Dias Miranda Neto

Av. Daniel de la Touche, 23 - Olho D'agua,
65045-250 – São Luís - MA, Brasil

Avaliação do *status* oxidativo, consumo alimentar de zinco e zinco plasmático em indivíduos infectados pelo HIV

Evaluation of oxidative status, food consumption of zinc and plasma zinc in HIV-infected individuals

Deisi Tonel[1]
Thiago Okagawa Silva[1]
Angela Khetly Lazarotto[1]
Diane Aparecida Muller[1]
Leidiane de Lucca[2]
Thiago Tsunehiko Dias Ichikawa[3]
Josana Dranka[4]
Paulo Rogério Pinto Rodrigues[5]
Thissiane de Lima Gonçalves[6]
Jucieli Weber[7]
André Lazarin Gallina[7]
Dalila Moter Benvegnú[8]

Resumo
Objetivo: Objetivou-se analisar o consumo alimentar e os níveis plasmáticos de zinco além de biomarcadores do *status* oxidativo de pacientes com infecção pelo HIV. **Métodos:** Foram selecionados indivíduos adultos com HIV e contagem de linfócitos T CD4<500 células/mm^3, assistidos por um centro especializado, localizado na região oeste do Paraná. Realizou-se a aplicação de questionários, avaliação antropométrica e coleta sanguínea para análise de zinco e biomarcadores do *status* oxidativo. **Resultados:** Avaliou-se um total de quarenta indivíduos adultos, nos quais se observaram consumo adequado de zinco e grande frequência de eutrofia e sobrepeso. Obteve-se correlação positiva entre tióis proteicos (SH-P) e os níveis plasmáticos de zinco e correlação negativa entre SH-P e a peroxidação lipídica (PL) no plasma e nos eritrócitos. Além disso, verificou-se um aumento nos níveis de SH-P em pacientes com presença de doença oportunista em alguma fase da infecção viral. **Conclusão:** Apesar de não ter sido observada relação entre níveis de zinco sanguíneo e a contagem de linfócitos T CD4 e carga viral, as propriedades do mineral ainda são defendidas como essenciais.

Palavras-chave
Sorodiagnóstico; AIDS; Zinco; Estresse oxidativo; Estado nutricional

INTRODUÇÃO

Conforme dados do Ministério da Saúde, desde 1980, até junho de 2015 foram computados 798.366 casos de pessoas infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) no Brasil. Isso expressa uma importante causa de morbidade e mortalidade, sendo que, desde o início da epidemia da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) até dezembro de 2014, foram identificados 290.929 óbitos tendo como causa básica a AIDS.(1)

A infecção pelo HIV envolve vários órgãos e tem como alvo o sistema imunológico, mecanismo através do qual o vírus do HIV atua introduzindo seu material genético no DNA das células do hospedeiro, principalmente nos linfócitos T CD4, destruindo-os devido à grande replicação viral. Essa morte de células vai acarretar a imunodeficiência, propiciando aos indivíduos infectados maiores chances de infecções oportunistas.(2) Após introdução da terapia antirretroviral (TARV), houve redução da morbidade e mortalidade de indivíduos que possuem infecção pelo HIV, fato este que diminui a progressão da doença por meio do controle da multiplicação viral, além de aumentar o intervalo de tempo de surgimento da doença da AIDS.(3)

Complicações desencadeadas pelo uso da TARV são comumente observadas, podendo ser citadas as interações medicamentosas, que podem levar a deficiências de micronutrientes e também a lipodistrofia. Tais alterações acompanham modificações do metabolismo de lipídios e glicídios, fazendo com que o paciente apresente risco de desenvolver doenças cardiovasculares.(4)

[1]*Acadêmica(o) do curso de nutrição da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Realeza - Realeza - PR, Brasil.*
[2]*Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) - Santa Maria - RS, Brasil.*
[3]*Acadêmico do curso de química da Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro) - Guarapuava - PR, Brasil.*
[4]*Coordenadora do Centro Especializado de Doenças Infecto Parasitárias (CEDIP) - Cascavel - PR, Brasil.*
[5]*Docente do Departamento de Química da Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro) - Guarapuava - PR, Brasil.*
[6]*Docente do Departamento de Análises Clínicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) - Santa Maria - RS, Brasil.*
[7]*Docente da Universidade Federal da Fronteira Sul, (UFFS), Campus Realeza - Realeza - PR, Brasil.*
[8]*Doutora/Universidade Federal da Fronteira Sul - Campus Realeza - (Docente).*

Instituição: Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS - Campus Realeza - Realeza - PR, Brasil.

Recebido em 27/02/2018
Artigo aprovado em 23/08/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800679

Desse modo, vários fatores são importantes para o cuidado do paciente com HIV e, dentre eles, a alimentação exerce papel fundamental na saúde, contribuindo para a melhora na qualidade de vida e na resposta ao tratamento. Assim, a nutrição apresenta influência sobre a imunodeficiência e morbidade decorrentes de infecções, sendo que números reduzidos de linfócitos no sistema imune parece ser uma causa significativa da perda da capacidade de defesa do hospedeiro, fato comumente observado em situações em que há deficiência nutricional do mineral zinco.[5]

O zinco é reconhecido por possuir ação em diversos sistemas do organismo humano, portanto, sua deficiência causa efeitos indesejáveis à saúde. Dentre estes, podem-se observar prejuízos no sistema imune, alterações do paladar e apetite, diminuição da ingestão alimentar, disfunções como a diarreia, alopecia, entre outras alterações. Dessa forma, é evidente a existência da relação do zinco com a AIDS, visto que a deficiência desse mineral está presente em todos os estágios da doença tornando-se um fator para a multiplicação viral.[6]

Além disso, o zinco possui propriedades antioxidantes, porém atua de forma indireta, pois o mineral não é ativo em reações de oxirredução. Seu efeito antioxidante é explicado devido ao seu papel na regulação da síntese da metalotioneína na estrutura da enzima superóxido dismutase e na proteção de agrupamentos sulfidrila de proteínas de membranas celulares por antagonismo com metais pró-oxidantes como ferro e cobre.[7] Diante do exposto, objetivou-se analisar o consumo alimentar e os níveis plasmáticos de zinco, além de biomarcadores do *status* oxidativo de pacientes infectados pelo HIV.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção dos participantes

Entre os anos de 2015 e 2016 foi realizada uma pesquisa quantitativa, na qual foram selecionados quarenta indivíduos doentes de AIDS, de faixa etária entre 18 a 59 anos, de ambos os sexos, assistidos por um centro especializado, localizado na região oeste do estado brasileiro do Paraná, que apresentassem contagem de linfócitos T CD4 inferior a 500 células/mm^3, independente da carga viral.

Foi aplicado um questionário aos pacientes, de modo individual, a fim de serem analisados dados pessoais e de estado de saúde, como características de gênero, faixa etária, condições socioeconômicas e demográficas, consumo alimentar e utilização de suplementos. Abordaram-se ainda questões como o tempo que o indivíduo possui o vírus e a manifestação dos sintomas da doença, medicamentos utilizados no tratamento e efeitos adversos, medicamentos utilizados como terapia de suporte, doenças oportunistas e sintomas em geral. Os exames necessários ao acompanhamento da carga viral, a contagem de células CD4, assim como outras informações acerca de cada paciente foram acessadas mediante análise dos prontuários de atendimento.

A investigação do consumo alimentar de zinco ocorreu pela aplicação do Questionário de Frequência Alimentar (QFA) reduzido - ELSA-Brasil.[8] Além do QFA, foi aplicado o diário alimentar de três dias, também conhecido como registro alimentar.

Para cálculo do QFA, utilizou-se o programa Microsoft Office Excel, versão 2010, e para cálculo dos diários alimentares utilizou-se o *software* Nutrilife, versão demonstrativa 9.5. Para análise dos dados, utilizou-se a média de ambos os questionários.

A necessidade de zinco varia de acordo com a faixa etária e sexo. Em geral, segundo as *Dietary Reference Intakes* (DRI), que se constitui na mais recente revisão dos valores de recomendação de nutrientes e energia adotados pelos Estados Unidos e Canadá, o consumo preconizado pela *Recommended Dietary Allowances* (RDA) é de cerca de 8 mg/dia para mulheres e 11 mg/dia para homens e valores para avaliação do consumo recomendados pela *Estimated Average Requirements* (EAR) de 6,8 mg/dia para mulheres e 9,4 mg/dia para homens. Já o *Tolerable Upper Intake Level* (UL), definido como o valor mais alto de ingestão diária prolongada de um nutriente que não oferece risco de efeito adverso à saúde, preconiza o valor máximo de 40 mg/dia.[9]

A avaliação antropométrica aconteceu em um espaço separado, na própria unidade de tratamento de forma individualizada. Realizou-se a coleta de medidas antropométricas de peso e estatura, com auxílio de uma balança digital e estadiômetro portátil. Para a avaliação do estado nutricional dos indivíduos, fez-se o cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC) a partir da seguinte fórmula: peso atual (Kg)/estatura (m)^2, com critérios de classificação determinados pela Organização Mundial da Saúde.[10]

Técnicas e instrumentos para coleta de sangue

Realizou-se uma coleta sanguínea dos participantes a fim de serem determinados os níveis plasmáticos de zinco e biomarcadores do *status* oxidativo. A coleta de sangue ocorreu na unidade de tratamento dos participantes da pesquisa, em sala reservada, por uma enfermeira. Para tal procedimento foram utilizadas luvas cirúrgicas, garrote, álcool 70%, algodão, curativos, seringas de 10 mL e agulhas descartáveis. O material coletado foi disposto em tubo identificado contendo o anticoagulante EDTA, homogeneizado e depositado em uma caixa de isopor contendo gelo até imediato processamento na unidade central de saúde do município. O sangue foi inicialmente centrifugado (5 min a 4.300 rpm) a fim de se obterem o sobrenadante

denominado plasma e o sedimento eritrocitário. Parte do sobrenadante foi centrifugado com igual volume de ácido tricloroacético 5%, a fim de serem precipitadas as proteínas plasmáticas para análise de vitamina C. As amostras foram mantidas em freezer a -80ºC até serem realizadas as análises descritas a seguir.

Quantificação plasmática de zinco

A determinação de zinco nas amostras de plasma previamente decompostas por via úmida foi realizada através de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), empregando-se um espectrômetro simultâneo Spectro Ciros CCD (*Spectro Analytical Instruments*, Alemanha) equipado com sistema de nebulização pneumático tipo *cross-flow*, câmera de nebulização de duplo passo e tocha com injetor de quartzo, com 2,5 mm de diâmetro interno. A potência do plasma foi de 1.400 W e as vazões de argônio foram de 14 L min-1 (plasma), 1 L min-1 (nebulizador) e 1 L min-1 (auxiliar). O comprimento de onda para as determinações foi de 213,856 nm.

Análise de marcadores de estresse oxidativo

Objetivou-se analisar marcadores do estresse oxidativo a fim de verificar associações entre danos oxidativos e o processo de multiplicação viral.

A peroxidação lipídica no plasma e nos eritrócitos foi avaliada por meio da determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e medida no plasma de acordo com o método descrito por Lapenna et al.[11] A técnica de TBARS baseia-se na reação do malondialdeído, substância resultante do estresse oxidativo (EO) sobre membranas lipídicas celulares, com o ácido tiobarbitúrico, que resulta em uma coloração rósea, determinada através de método colorimétrico, em 532 nm.

Os níveis dos grupos tióis proteicos (SH-P) foram imediatamente determinados depois da reação com 5,5'-ditiobis-(2-ácido nitrobenzoico) (DTNB) e a cor desenvolvida foi mensurada espectrofotometricamente em 412 nm, de acordo com Ellman.[12]

A determinação de vitamina C plasmática foi estimada como descrito por Galley et al.,[13] com pequenas modificações de Jacques-Silva et al.[14] O plasma foi precipitado com 1 volume de ácido tricloroacético (TCA) 5% e o sobrenadante misturado com dinitrofenilhidrazina (DNPH) e ácido sulfúrico 65%, produzindo um composto de coloração amarelada, detectado em 520 nm.

Análise estatística dos dados

Os dados foram analisados utilizando-se o *software* Statistica, versão 8.0, com aplicação do teste de correlação linear múltipla, assim como o teste de análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste *post-hoc* de Duncan. Consideraram-se valores estatisticamente significativos quando o valor de $p < 0,05$.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS sob número 33713113.0.0000.5564. Todos os participantes selecionados assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

RESULTADOS

Obteve-se um total de quarenta (n=40) indivíduos adultos entrevistados, dos quais 21 (52,5%) eram do sexo masculino e 19 (47,5%) do sexo feminino, com média de idade de 40 anos para ambos os sexos, residentes, em sua maioria (67,5%), na cidade em que se localiza o centro especializado. Analisaram-se também dados sociodemográficos, no qual 24 participantes (60%) não concluíram a educação básica, apresentando de forma expressiva o ensino fundamental incompleto ou completo ou o ensino médio incompleto. Ainda, a maioria dos indivíduos caracterizava-se como solteiro(a) (42,5%), não fumante de tabaco (75%) e não etilista (67,5%), conforme Tabela 1.

Em relação ao estado nutricional, verificou-se que a maioria das pessoas avaliadas apresentava eutrofia (40%), seguido de sobrepeso (32,5%), conforme Figura 1.

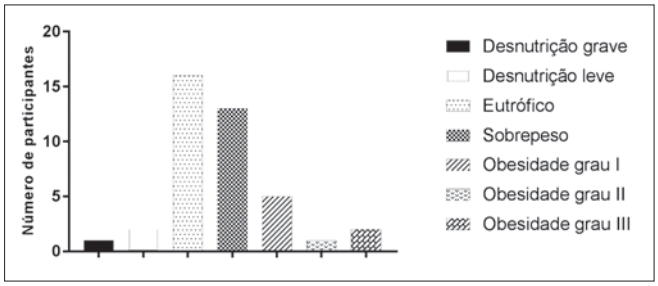


Figura 1. Classificação do estado nutricional dos participantes da pesquisa (n=40).

Ao serem questionados sobre a história clínica da doença, os indivíduos contraíram em sua maioria (62,5%) a infecção viral via relação sexual desprotegida e 30% do total de pessoas não possuía conhecimento sobre a origem de contração do vírus do HIV. Vinte e quatro participantes (60%) relataram conhecimento em relação à detecção do vírus através da realização de exames rotineiros, apresentando tempo médio de 72,5 meses de detecção viral, ou seja, a partir do momento da descoberta da infecção viral. Além disso, exames sanguíneos demonstraram que a contagem média de linfócitos T CD4 foi de 251,8 cél/mm³ e a determinação média da carga viral apresentou-se em 1660,9 cópias/mL, conforme informações expressas na Tabela 2.

Tabela 1 - Características gerais dos participantes da pesquisa.

Característica analisada	Média ± DP* (min - max)
Idade	40 ± 10,9 (20 - 59)
	n=40
Sexo	
Feminino	19
Masculino	21
Escolaridade	
Fundamental Incompleto	13
Fundamental Completo	8
Médio Incompleto	3
Médio Completo	12
Superior Incompleto	2
Superior Completo	2
Estado civil	
Solteiro	17
Casado	12
Amasiado	2
Viúvo	4
Separado	5
Fumante	10
Etilista	13

* Desvio Padrão

Tabela 2 - Características clínicas dos participantes da pesquisa.

Característica analisada	Média ± DP* (min - max)
Tempo médio de detecção (meses)	72,5 ± 67,7 (4 - 228)
Linfócitos T CD4 (cél/mm³)	251,8 ± 90,9 (65 - 449)
Carga viral detectável (cópias/mL)**	1660,9 ± 4439,2 (40 - 16.362)
	n=40
Forma de detecção do vírus	
Exames rotineiros	24
Teste rápido	5
Exames de internamento hospitalar	3
Outras	8
Forma de contração do vírus	
Relação sexual desprotegida	25
Origem desconhecida	12
Outras	3
Presença de sintomas da doença	
Sim	19
Não	21
Presença de doenças oportunistas	
Sim	21
Não	19

* Desvio Padrão; ** n = 12

Quando indagados sobre a presença de sinais e sintomas típicos da infecção pelo HIV, 47,5% responderam positivamente a esta questão, sendo mais citados os sinais e sintomas de fraqueza, vertigem, náusea, febre e perda ponderal. Referente ao questionamento da presença ou ausência de doenças oportunistas, 52,5% apresentaram o desenvolvimento de algum tipo de doença, sendo as mais citadas pneumonia, toxoplasmose, tuberculose e o desenvolvimento de infecções recorrentes (urinária, vaginal e de gengiva). Referente ao uso de medicamentos pertencentes à TARV, os mais utilizados foram o efavirenz, lamivudina, tenofovir, zidovudina e o atazanavir de forma isolada ou mais comumente observado na forma de combinações de medicamentos em um único comprimido.

Ao se analisarem questões referentes à história alimentar, verificou-se uma média de três refeições realizadas no dia. Questionados quanto à percepção em relação ao apetite, 67,5% apresentaram apetite bom, sem mudança de hábito alimentar, mas omitindo refeições em situações especiais, conforme expresso na Tabela 3.

Tabela 3 - Características alimentares dos participantes da pesquisa

Característica analisada	Média ± DP* (min - max)
Refeições ao dia	3 ± 1 (2 - 6)
	n=40
Apetite	
Bom	27
Regular	11
Ruim	2
Mudança de hábito alimentar	
Compulsão alimentar	11
Falta de apetite	11
Não apresenta	18
Omissão de refeições	
Sim	30
Não	10

* Desvio Padrão; ** n = 12

Em relação à avaliação do consumo alimentar de zinco, pode-se notar que a média obtida através dos questionários alimentares apresentou maior número de valores acima da recomendação pela EAR para ambos os sexos. Além disso, as análises plasmáticas de zinco na população estudada mostraram grande variação, sendo valores superiores aos de referência (70 µg/dL a 115 µg/dL), podendo ser visualizado na Figura 2.

No que diz respeito às análises referentes ao *status* oxidativo foram verificadas correlações entre os biomarcadores. Assim, houve correlação positiva entre SH-P e zinco plasmático, ou seja, quanto maior a concentração de SH-P no plasma, maior a concentração de zinco plasmático. Obteve-se também, correlação negativa entre SH-P e níveis de peroxidação lipídica (PL) evidenciados por meio de TBARS no plasma e nos eritrócitos. Esta correlação demonstra que, quanto maiores os níveis de SH-P, menor será a PL plasmática e eritrocitária.

Explorando de forma mais minuciosa as variáveis referentes ao EO, foi possível demonstrar um aumento dos níveis de SH-P em indivíduos que já desencadearam algum tipo de doença oportunista no período de tempo em que há

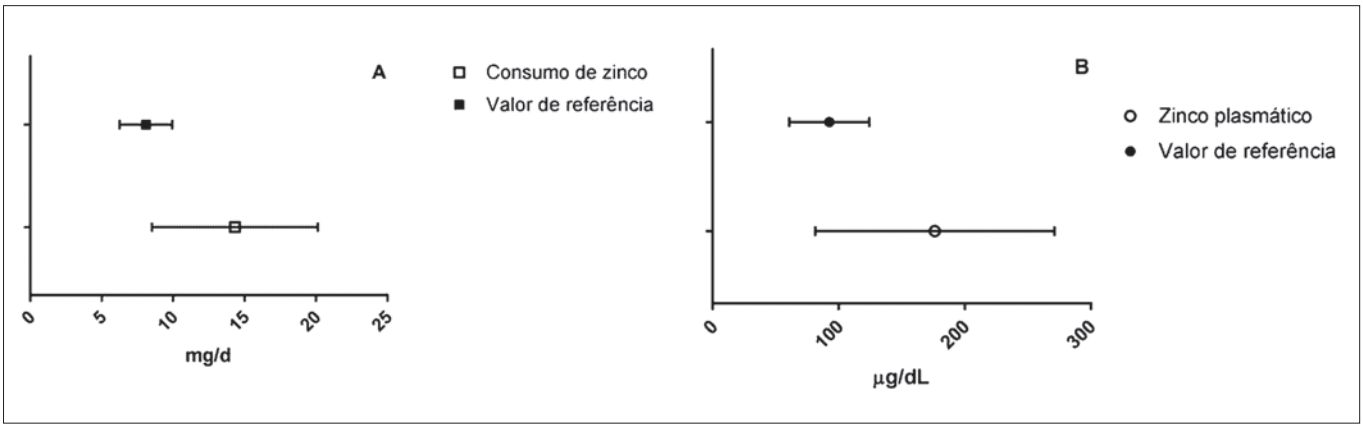


Figura 2. Análise do consumo alimentar de zinco (A) e dos níveis plasmáticos de zinco (B) dos participantes da pesquisa (n=40).

o conhecimento da detecção do vírus do HIV (p = 0,008), conforme Figura 3.

Questionados quanto ao uso de suplementos de vitamina e/ou mineral, apenas cinco participantes faziam uso, sendo eles suplementação proteica, com cálcio, ácido graxo ômega-3 e multivitamínico e mineral. Como a expressividade de pessoas que fazem uso desses suplementos foi baixa (20%), para fins de análise estatística não foram descartados valores referentes às análises de consumo e sanguíneas.

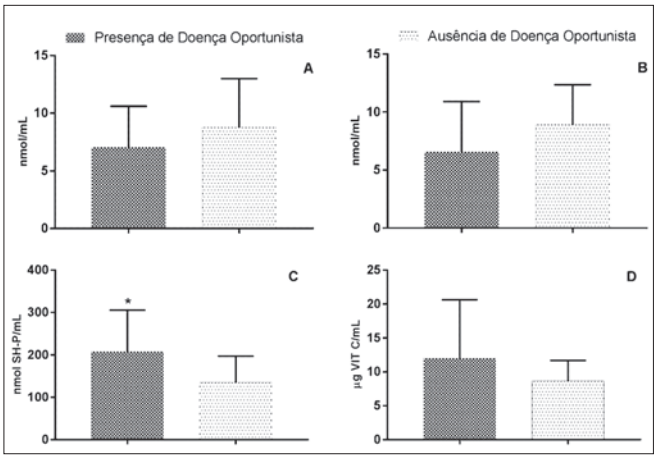


Figura 3. Biomarcadores do status oxidativo e sua relação com a ocorrência das doenças oportunistas nos participantes da pesquisa
A: TBARS no plasma; B: TBARS nos eritrócitos; C: SH-P no plasma; D; Vitamina C no plasma.
** Diferença significativa do grupo ausência de doença oportunista (p = 0,008).*

DISCUSSÃO

Por intermédio do presente estudo, analisou-se o histórico pessoal da população estudada e pode-se notar que a maioria dos indivíduos caracteriza-se como solteiro (a) (42,5%), com educação básica de forma não concluída (60%), fato encontrado também por Ferreira et al.,[15] os quais avaliaram um total de 205 pessoas com infecção pelo HIV e obtiveram dados semelhantes aos do presente estudo, com 55,1% das pessoas que não possuíam a educação básica completa e 32,2% de indivíduos solteiros.

Considerando os dados referentes à avaliação do estado nutricional, pode-se notar que, no presente estudo, obteve-se um total de 52,5% de indivíduos que apresentavam algum grau de excesso de peso e 40% de indivíduos que apresentavam adequação do seu estado nutricional. Corroborando com esses resultados, Moutinho et al.[16] avaliaram a evolução do estado nutricional em vinte pacientes com AIDS, onde obtiveram grande expressão de indivíduos com excesso de peso, sendo caracterizado por 75% do total de indivíduos da pesquisa.

A realização da avaliação do estado nutricional de pessoas com HIV torna-se ponto chave no controle da evolução da doença e no estado de saúde do indivíduo. Com a utilização frequente da TARV, o perfil nutricional de indivíduos com essa infecção modificou-se ao longo do tempo, passando de um estado assíduo de desnutrição e deficiências nutricionais para um quadro de excesso de peso associado à maior predisposição para o surgimento de síndrome metabólica devido à infecção crônica pelo HIV.[17] Assim, torna-se cada vez menos comum o achado de magreza e desnutrição nesse público estudado.

Pesquisas relatam possíveis fatores associados ao excesso de peso em pacientes com infecção pelo HIV, sendo eles a alimentação, fatores fisiológicos, psicológicos, genéticos e condições ambientais, além do desejo de não parecer magro demais e transmitir a ideia de possuir alguma doença. Vários fatores podem estar envolvidos no ganho de peso e mudanças na distribuição de gordura corporal em usuários da TARV, na qual há evidências de que o uso de antirretrovirais esteja diretamente associado à ocorrência de lipodistrofia, porém não há evidências da relação entre o uso da terapia com excesso de peso.[18]

Referente às características clínicas dos participantes, observou-se que eles apresentavam contagem de linfócitos T CD4 < 500 cél/mm³ e, em sua maioria, com carga viral indetectável (n = 28). Achado semelhante ao presente estudo, realizado por Rezer et al.,[19] mostrou baixa contagem de linfócitos T CD4 e carga viral frequentemente indetectável de cópias do vírus/mL. Este quadro clínico sugere uma boa adesão ao tratamento e ao uso da TARV, fato este que promove a contenção da replicação viral. No entanto, sabe-se que a manutenção do estado imunológico está associada a um conjunto de fatores e que a baixa contagem de células CD4 pode ser preditiva de piora no prognóstico da doença.[20]

Doenças oportunistas em indivíduos com HIV se desenvolvem em decorrência da imunodeficiência do hospedeiro. Ou seja, quanto menor for a contagem de linfócitos T CD4, maior será a imunodeficiência do indivíduo com HIV e maior será a chance de desenvolver algum tipo de doença oportunista. No presente estudo, foi encontrada uma taxa alta de indivíduos que já possuíram algum tipo de doença oportunista (52,5%), fato este também avaliado no estudo de Silva et al.,[21] o qual obteve incidência de 29,3% de pessoas, sendo as mais citadas as hepatites C, B e A, tuberculose, toxoplasmose e sífilis, respectivamente. Relativo à história alimentar, um estudo que avaliou o perfil alimentar de indivíduos infectados pelo HIV obteve média de refeições realizadas no dia de 3 a 4, dado também encontrado no presente estudo, o qual é considerado baixo quando se orienta a realização de cinco a seis refeições diárias.[22] A partir da realização de uma refeição saudável e com a introdução de alimentos de fontes de zinco, como produtos de origem animal, cereais integrais e leguminosas, é possível ingerir boas fontes deste mineral.[23] Como foi destacado anteriormente, os participantes do estudo apresentaram um consumo adequado desse mineral, porém esta ingestão acima do recomendado não apresenta risco à saúde dos pacientes visto que nenhum deles apresentou consumo superior ao limite máximo tolerável de 40 mg de zinco de recomendação para uma ingestão segura.[24]

Com base nesse consumo, pode-se notar que houve boa absorção do zinco ingerido através da alimentação ao se observarem os valores do mineral no plasma. No entanto, esses valores mostraram-se superiores ao valor de referência, fato este que deve ser monitorado, pois, segundo Mafra e Cozzolino,[25] concentrações plasmáticas de zinco superiores a 150 g/dL são indicadores de toxicidade. Além disso, o estudo demonstrou que a TARV reduz deficiências de zinco.[26] Assim, a elevação nas concentrações plasmáticas de zinco podem ser decorrentes do alto consumo do mineral através da alimentação, estando associado ao uso da TARV.

A ocorrência da redução dos níveis de zinco plasmático facilita a multiplicação do vírus do HIV, o qual promove aumento da taxa de infecção de células imunes. Além disso, a produção de receptores celulares para o vírus do HIV é dependente da concentração de zinco, ou seja, os receptores podem ser inibidos na presença do mineral, diminuindo assim a proliferação viral. Desta forma, estudos avaliaram a relação entre a concentração de zinco no plasma e respostas imunológicas após suplementação do mineral em pacientes HIV positivos. Os resultados mostraram que a contagem de células CD4 foi maior e da carga viral menor nos pacientes que receberam a suplementação com zinco em comparação com aqueles que receberam o placebo.[27] No entanto, apesar dos indivíduos do presente estudo apresentarem altas concentrações de zinco no plasma, não se observou relação entre a concentração do mineral e a contagem de linfócitos T CD4 e a carga viral.

Além dessas funções, o zinco possui papel na proteção antioxidante das células combatendo as espécies reativas de oxigênio (EROs). Assim, quanto menor a disponibilidade de zinco no organismo humano maior será a expressão do quadro de EO, onde ocorre uma quebra do equilíbrio, favorecendo os oxidantes, frente aos antioxidantes, fato este que prejudica a defesa imunológica em relação à infecção viral.[28]

De forma geral, indivíduos que possuem a infecção pelo HIV apresentam depleção de linfócitos T CD4 através da apoptose, que, segundo Romero-Alvira e Roche,[29] esse fato ocorre não somente pela multiplicação viral, mas também devido ao EO e à diminuição da glutationa (GSH). Este é um potente agente redutor, o qual apresenta a capacidade de eliminar EROs. Ainda, pode ser visualizado que quanto maior a concentração de SH-P no plasma, medida indireta de GSH, menor é o processo de PL em decorrência ao combate das EROs. Este fato pode ser visualizado no presente estudo, uma vez que houve correlação positiva entre as concentrações de SH-P e zinco plasmático, e correlação negativa entre as concentrações de SH-P e TBARS no plasma e nos eritrócitos, fato este que comprova mais uma vez a ação dos grupos sulfidrílicos (SH) no combate às EROs e diminuição da PL.

Paralelamente, a literatura relata que a baixa concentração de GSH no metabolismo é relacionada fortemente à diminuição da sobrevivência de pessoas que possuem a infecção pelo HIV.[30] Contudo, não existem dados demonstrando maiores níveis de GSH, ou mesmo de SH-P em indivíduos que já desenvolveram algum tipo de doença oportunista durante a infecção viral. Desta forma, surgem duas hipóteses para justificar tal achado: i) a de que os indivíduos estudados não estavam apresentando a doença oportunista no momento da coleta sanguínea e ii) a de que pode ter ocorrido uma compensação no sentido de aumentar os níveis desses antioxidantes, já que anteriormente os mesmos foram depletados justamente em função de doença oportunista.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo demonstra que o consumo alimentar de zinco foi superior ao determinado pela EAR, fazendo com que os indivíduos possuíssem alto processo de absorção, visto que apresentaram altas concentrações do mineral no plasma. Além disso, o presente estudo demonstrou correlação positiva entre níveis de SH-P e zinco plasmático e correlações negativas entre níveis de SH-P e TBARS no plasma e nos eritrócitos.

Apesar de o zinco sanguíneo não ter tido relação significativa sobre os linfócitos T CD4 e carga viral, suas propriedades ainda são defendidas como essenciais, uma vez que esse micronutriente possui papel comprovado tanto nos mecanismos de proteção antioxidante quanto no fortalecimento do sistema imunológico.

Verificou-se também que há necessidade de acompanhamento periódico no que diz respeito a parâmetros que avaliam o *status* oxidativo, visto que a diminuição de antioxidantes e o aumento da produção de radicais livres podem agravar o estado de saúde dos indivíduos. Por fim, tendo em vista a limitação do tamanho do público estudado, há necessidade de outros estudos que visem a determinação dos benefícios do zinco em pacientes infectados pelo HIV, podendo também ser realizada uma suplementação desse mineral concomitante ao estudo dos mesmos parâmetros analisados neste estudo.

Abstract

Objective: *The objective was to analyze dietary intake and plasma zinc levels as well as biomarkers of the oxidative status of patients with HIV infection.* ***Methods:*** *Adult individuals with HIV and CD4 T lymphocyte counts <500 cells/mm³ were selected, assisted by the Specialized Center for Parasitic Infectious Diseases, located in Cascavel, Paraná were selected. Questionnaires, anthropometric evaluation and blood collection were used for the analysis of zinc and oxidative status biomarkers.* ***Results:*** *It was interviewed a total of forty adult individuals, who obtained adequate consumption of zinc and a high rate of eutrophy and overweight. There was a positive correlation between protein thiols (P-SH) and plasma zinc levels and negative correlation between SH-P and lipid peroxidation (LP) in plasma and erythrocytes. In addition, there was an increase in SH-P levels in patients with opportunistic disease at some stage of viral infection.* ***Conclusion:*** *Although no relationship was observed between blood zinc levels and CD4 T lymphocyte count and viral load, their properties are still advocated as essential.*

Keywords

Serodiagnosis; AIDS; Zinc; Oxidative stress; Nutritional status

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Boletim Epidemiológico AIDS e DST. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, PN de DST e AIDS, Ano IV - nº 1 - da 01ª à 26ª semana epidemiológica - jan./jun. 2015.
2. Silva IG, Santos UO, Ferreira ES. A evolução do HIV/AIDS na terceira idade: uma revisão bibliográfica. Biblioteca Virtual de Enfermagem, 2015.
3. Waidman MAP, Bessa JB, Silva FLC. Viver com aids e sofrer psiquicamente. Rev Rene. 2011; 12(1):173-80.
4. Leão LSCS, Gomes MCR. Manual de Nutrição Clínica: Para atendimento Ambulatorial do Adulto. 12 ed. Petrópolis, RJ: Vozes, 2012.
5. Brasil, Projeto Diretrizes. Terapia Nutricional na Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (HIV/AIDS). Sociedade Brasileira de Nutrição Parenteral e Enteral & Associação Brasileira de Nutrologia. 2011.
6. Vannucchi H, Marchini JS. Nutrição Clinica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.
7. Koury JC, Donangelo CM. Zinc, oxidative stress and physical activity. Rev Nutr 2003; 16(4):433-41.
8. Mannato LW. Questionário de frequência alimentar ELSA-Brasil: proposta de redução e validação da versão reduzida. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, 2013.
9. Padovani RM, Amaya-Farfán J, Colugnati FAB, Domene SMÁ. Dietary reference intakes: application of tables in nutritional studies. Rev Nutr 2006;19(6):741-60.
10. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. WHO Technical Report Series, Geneva, n. 894, 1998.
11. Lapenna D, Ciofania G, Pierdomenicoa SD, Giamberardinoa MA, Cuccurulloa F. Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxidesin human plasma. Free Radic Biol Med. 2001;31(3):331-5.
12. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. Arch Biochem Biophys. 1959;82(1):70-7.
13. Galley, HF, Davies MJ, Webster NR. Ascorbyl radical formation in patients with sepsis: effect of ascorbate loading. Free Radic Biol Med. 1996;20(1):139-43.
14. Jacques-Silva MC, Nogueira CW, Broch LC, Flores EM, Rocha JB. Diphenyl diselenide and ascorbic acid changes deposition of selenium and ascorbic acid in liver and brain of mice. Pharmacol Toxicol. 2001;88(1):119-25.
15. Ferreira BE, Oliveira IM, Paniago AMM. Quality of life of people living with HIV/AIDS and its relationship with CD4+ lymphocytes, viral load and time of diagnosis. Rev Bras Epidemiol. 2012;15(1):75-84.
16. Montinho ABA, Pretto ADB, Moreira ÂN. Evolução do estado nutricional de pacientes com AIDS atendidos em um ambulatório de nutrição. Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento 2015; 51(9):85-95.
17. Crum-Cianflone N, Tejidor R, Medina S, Barahona I, Ganesan A. Obesity among patients with HIV: the latest epidemic. AIDS Patient Care STDS. 2008;22(12):925-30.
18. Falco M, Castro ACO, Silveira EA. Nutritional therapy in metabolic changes in individuals with HIV/AIDS. Rev Saúde Públ 2012; 46(4): 737-46.
19. Rezer JFP, Leal DBR, Fleck J. Carga viral, contagem de linfócitos CD4+ e peroxidação lipídica em pacientes com sorologia reagente para anti-HIV. Disciplinarum Scientia Saúde. 2013;14(2):137-43.
20. Cassol E, Malfeld S, Mahasha P, Bond R, Slavik T, Seebregts C, et al. Impaired CD4+ T-cell restoration in the small versus large intestine of HIV-1-positive South Africans receiving combination antiretroviral therapy. J Infect Dis. 2013;208(7):1113-22.
21. Masur H. HIV-related opportunistic infections are still relevant in 2015. Top Antivir Med 2015; 23(3):116-9.
22. Silva JLG, Rezer JFP, Barcellos CF, Battisti V. Prevalência de Co-Infecções em Pacientes HIV/AIDS na Região Noroeste do Rio Grande do Sul. In VI Seminário de Inovação e Tecnologia. Rio Grande do Sul. 2016.
23. Brasil. Guia alimentar para a população brasileira / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. - 2. ed. - Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

24. Trumbo P, Yates AA, Schlicker S, Poos M. Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. J Am Diet Assoc. 2001;101(3):294-301.
25. Mafra D, Cozzolino SMF. The importance of zinc in human nutrition. Rev Nutr. 2004;17(1):79-87.
26. Rousseau MC, Molines C, Moreau J, Delmont J. Influence of highly active antiretroviral therapy on micronutrient profiles in HIV-infected patients. Ann Nutr Metab. 2000;44(5-6):212-6.
27. Asdamongkol N, Phanachet P, Sungkanuparph S. Low plasma zinc levels and immunological responses to zinc supplementation in HIV-infected patients with immunological discordance after antiretroviral therapy. Jpn J Infect Dis. 2013;66(6):469-74.
28. Prasad AS, Bao B, Beck FW, Kucuk O, Sarkar FH. Antioxidant effect of zinc in humans. Free Radical Biol Med 2004;37(8):1182-90.
29. Romero-Alvira D, Roche E. The keys of oxidative stress in acquired immune deficiency syndrome apoptosis. Med hypotheses 1998; 51 (2):169-73.
30. Deresz LF, Lazzarotto AR, Manfroi WC, Gaya A, Sprinz E, Oliveira ÁR, Dall'Ago P. Oxidative stress and physical exercise in HIV positive individuals. Rev Bras Med Esp 2007;13(4):275-9.

Correspondência
Deisi Tonel
Avenida Edmundo Gaievski, 1000, Cx Postal 253
85770-000 – Realeza-PR, Brasil

Dez anos da RDC 302/2005: avaliação da implantação em laboratórios de análises clínicas do estado de Santa Catarina

Ten years of RDC 302/2005: evaluation of implantation in laboratories of clinical analysis of Santa Catarina state

Gustavo Henrique Lescowicz[1]
Roberto Ferreira de Melo[2]
Elayne Cristina de Morais Rateke[3]
Flávia Martinello[2]

Resumo
Objetivo: Avaliar dez anos após a publicação se os laboratórios de análises clínicas do estado de Santa Catarina atendem aos requisitos da RDC 302/2005. A população de laboratórios foi obtida no CNES. **Métodos:** Como ferramenta de pesquisa foi elaborado um questionário baseado na RDC 302/2005 e enviado aos laboratórios. **Resultados:** Dos 523 laboratórios clínicos aptos a participar do estudo, o contato foi exitoso com apenas 198 e, desses, somente 20 participaram. Os participantes relataram que a RDC 302/2005 é essencial para o funcionamento dos laboratórios. O tempo para iniciar a implantação da RDC levou, em média, um ano, e o tempo para a conclusão delongou mais um ano. Doze laboratórios relataram cumprir todos os requisitos da resolução. No entanto, apenas dois laboratórios cumprem integralmente os 38 requisitos da RDC pesquisados. Os requisitos de rotulagem de reagentes, registro de temperatura de equipamentos, gerenciamento de resíduos, comunicação de valores críticos, arquivamento de laudos e dados brutos e notificação de resultados que indiquem doença notificável foram cumpridos por todos os laboratórios. O registro da temperatura de transporte das amostras foi o requisito menos cumprido pelos laboratórios. As principais dificuldades relatadas para implantação dos requisitos foram nas áreas de gestão e garantia de qualidade, aplicação dos conhecimentos de biossegurança e resistência dos colaboradores ao processo de mudança. **Conclusão:** A formação dos profissionais voltada para conceitos e ferramentas de gestão, de sistema de qualidade e padronização de processos se faz necessária para os laboratórios e pode ser o início da solução para as dificuldades apresentadas pelos laboratórios pesquisados.

Palavras-chave
Gestão de qualidade; Garantia da qualidade; Controle de qualidade; Qualidade total; Laboratório clínico

INTRODUÇÃO

A qualidade é definida como a conformidade às exigências do usuário e/ou clientes, referindo-se à satisfação das necessidades e expectativas dos mesmos. Assim, é de grande importância que o foco dos serviços de saúde seja nos indivíduos que os utilizam de forma direta ou indireta.(1) Contudo, a complexidade dos processos laboratoriais torna necessária a implantação de programas de qualidade, os quais buscam melhorar a qualidade do serviço, aumentar a produtividade e baixar o custo.(2)

O progresso da qualidade no laboratório clínico é decorrente e proporcional ao avanço tecnológico no setor laboratorial, permitindo a implantação de modernos conceitos e programas de qualidade, os quais incluem conceitos de controle da qualidade, garantia da qualidade e gestão total da qualidade, que envolvem todas as etapas do ciclo laboratorial desde a requisição do exame até a liberação do laudo.(2)

Essas estratégias permitem promover, estimular e aprimorar o senso de observação de causas e origens de não conformidades por todos os indivíduos envolvidos em qualquer organização.(3)

De acordo com Mendes,(4) gerenciar requer organização dos principais processos laboratoriais que envolvem:

[1]*Estudante de Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – Florianópolis-SC, Brasil.*
[2]*Professor (a) do Departamento de Análises Clínicas, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – Florianópolis-SC, Brasil.*
[3]*Farmacêutica da Divisão de Análises Clínicas, HU-UFSC, Universidade Federal de Santa Catarina – Florianópolis-SC, Brasil.*

Instituição: Departamento de Análises Clínicas, Universidade Federal de Santa Catarina– Florianópolis-SC, Brasil.

Recebido em 16/09/2018
Artigo aprovado em 23/08/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800617

- Gestão de pessoas;
- Infraestrutura;
- Tecnologia de informação;
- Gestão de equipamentos;
- Atendimento aos clientes;
- Produção de exames laboratoriais;
- Biossegurança;
- Gestão de Negócio;
- Logística;
- Gestão da Qualidade;
- Gestão Ambiental; e
- Gestão de Projetos.

A preocupação com a qualidade na área laboratorial tornou necessária a criação de padrões mínimos de organização para funcionamento desses estabelecimentos de saúde. Programas de certificação, acreditação e regulamentações foram desenvolvidos no decorrer do último século e novidades continuam a surgir.[2]

No Brasil, a Resolução de Diretoria Colegiada, RDC, que regulamenta o funcionamento de Laboratórios Clínicos é a RDC nº 302/2005(5). Esta resolução foi publicada em 30 de outubro de 2005, e os laboratórios clínicos e postos de coleta laboratorial deveriam, dentro do prazo de 180 dias (abril de 2006), se adequar ao estabelecido neste regulamento técnico.[5] Essa resolução teve alguns requisitos esclarecidos por meio da Nota Técnica Nº 039/2014 (GRECS/GGTES/Anvisa) e da RDC nº 30/2015.

A RDC 302/2005 regulamenta o funcionamento do laboratório clínico no que diz respeito às condições gerais de organização, recursos humanos, infraestrutura, equipamentos e instrumentos laboratoriais, produtos para diagnóstico de uso *in vitro*, gerenciamento de resíduos e biossegurança. Além disso, regulamenta os processos operacionais das fases analítica, pré e pós-analíticas, garantia e controle da qualidade e registros para rastreabilidade laboratorial.[5]

Nesse contexto, passados dez anos da publicação da referida resolução, este estudo tem o objetivo de avaliar as principais dificuldades que os laboratórios vivenciaram e ainda enfrentam para adequação e implementação da norma vigente.

METODOLOGIA

Tipo de estudo

A pesquisa foi desenvolvida na forma de estudo observacional descritivo com abordagem qualitativa e quantitativa. A combinação dos métodos quantitativos e qualitativos produz a triangulação metodológica, que contribui para aumentar o conhecimento sobre determinado tema, alcançar os objetivos traçados, observar e compreender a realidade estudada.[6]

Sujeitos da pesquisa

As informações sobre os laboratórios de análises clínicas de Santa Catarina foram pesquisadas na plataforma do Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde (CNES).[7] A consulta foi realizada no campo Relatórios, em seguida Tipo de Estabelecimento, a seguir foi selecionado o estado de Santa Catarina, todos os municípios e a competência atual (a qual corresponde ao mês de janeiro 2016).

No campo Tipo de Estabelecimento foram selecionados quatros ítens que correspondem às atividades laboratoriais:

a) Unidade de Apoio Diagnose e Terapia (SADT Isolado);
b) Laboratório Central de Saúde Pública - LACEN;
c) Centro de Atenção Hemoterapia e Hematologia;
d) Laboratório de Saúde Pública.

As informações obtidas na classificação "Unidade De Apoio Diagnose e Terapia (SADT)" foram verificadas uma a uma, pois havia estabelecimentos cadastrados que não eram relacionados às análises clínicas.

Ferramenta de pesquisa

Foi desenvolvido um questionário como ferramenta de pesquisa, baseado nos requisitos presentes na RDC nº 302/2005, com 129 perguntas agrupadas em 16 áreas:

a) Condições gerais;
b) Aspectos da implantação da RDC 302/2005;
c) Recursos Humanos;
d) Infraestrutura;
e) Equipamentos e Instrumentos Laboratoriais;
f) Materiais para Diagnóstico *in vitro*;
g) Descarte de Resíduos;
h) Biossegurança;
i) Transporte de Material Biológico;
j) Processos Operacionais - Fase Pré-analítica;
k) Processos Operacionais - Fase Analítica;
l) Processos Operacionais - Fase Pós-analítica;
m) Registros;
n) Garantia da Qualidade;
o) Controle Interno da Qualidade;
p) Controle Externo da Qualidade.

A validação do questionário foi realizada na Divisão de Análises Clínicas do Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago.

Os dados foram tabulados em planilha do Microsoft Excel, os resultados demonstrados por tabelas e gráficos e análise estatística realizada no mesmo programa.

Aspectos éticos da pesquisa

Seguindo recomendações da Resolução do Conselho Nacional de Saúde n°466 de 12 de dezembro de 2012, o presente projeto foi submetido ao Comitê de Ética em

Pesquisa (CEP) na Plataforma Brasil (CAAE: 51684915.3.0000.0121).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização dos laboratórios do estado de Santa Catarina, conforme dados obtidos no CNES

A pesquisa realizada em janeiro de 2016 na base de dados do Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde (CNES) indicava um total de 1.114 estabelecimentos de saúde cadastrados com possível atividade laboratorial em Santa Catarina (Tabela 1). Destes, 99,5% estavam cadastrados como estabelecimentos de Unidade de Apoio Diagnose e Terapia (SADT isolado).

Tabela 1 - Número de estabelecimentos de Saúde em Santa Catarina cadastrado no CNES, segundo o tipo (2016)

Tipo de Estabelecimento de Saúde de Santa Catarina Cadastrado no CNES	Número de Cadastros
Centro de Atenção Hemoterapia e ou Hematologia	1
Laboratório Central de Saúde Pública Lacen	1
Laboratório de Saúde Pública	4
Unidade de Apoio Diagnose e Terapia (SADT isolado)	1108
Total	**1114**

*Fonte: Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde - CNES (Janeiro de 2016)[7]

No entanto, diversos outros estabelecimentos, os quais não são laboratórios, estão cadastrados na categoria SADT. Para definir o número de laboratórios do estado aptos a participar da pesquisa, cada estabelecimento cadastrado no SADT foi analisado individualmente em relação às atividades desempenhadas. Após a análise, foram encontrados 571 laboratórios no estado de Santa Catarina (Tabela 2).

Tabela 2 - Número de laboratórios de Santa Catarina aptos a participar do Estudo, segundo o tipo de estabelecimento cadastrado no CNES (2016)

Tipo de estabelecimento cadastrado no CNES com atividade laboratorial em SC	Número de Cadastros
Centro de Atenção Hemoterapia e/ou Hematologia	1
Laboratório Central de Saúde Pública Lacen	1
Laboratório de Saúde Pública	4
Unidade de Apoio Diagnose e Terapia (SADT isolado)	565
Total	**571**

*Fonte: Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde - CNES (Janeiro de 2016)[7]

Dos 571 laboratórios, 48 (8,4%) realizam apenas Citopatologia e foram excluídos do estudo. Contudo, dos 523 laboratórios considerados aptos a participar do estudo, alguns também realizam análises citopatológicas. No entanto, vários números de telefone, endereços e endereços eletrônicos (e-mail) estão desatualizados no CNES, o que dificultou o convite aos laboratórios para participarem do estudo. Algumas dessas informações foram acessadas em outras mídias dos próprios estabelecimentos. Nesse contexto, conseguiu-se contato com apenas 198 laboratórios (37,8%) e, desses, apenas 23 estabelecimentos, 11,6% dos contatados e 4,4% do total, aceitaram participar do estudo. Por fim, três laboratórios preencheram o questionário de forma incompleta e foram excluídos do estudo.

Muitos laboratórios ignoraram o contato, outros se recusaram a participar e alguns informaram que participariam mas não retornaram com as respostas. A falta de tempo, a falta de conhecimento sobre o assunto ou mesmo o receio de assumir o não cumprimento da RDC 302/2005 estão entre as possibilidades para a não participação no estudo.

Perfil dos laboratórios participantes quanto às condições gerais de organização, infraestrutura, recursos humanos e aspectos da implantação da RDC 302/2005

O laboratório participante com maior tempo de funcionamento foi fundado em 1969 e o mais novo em novembro de 2015, sendo a mediana de 22,5 anos de existência. Quanto à natureza da instituição, dois (10%) laboratórios participantes são públicos e 18 (90%) privados. Laboratórios com atendimento apenas ambulatorial representam 60% (12), 5,0%[1] apenas hospitalar e 35%[7] prestam serviço tanto ambulatorial quanto hospitalar.

Todos os vinte laboratórios pesquisados utilizam o serviço de laboratórios de apoio para a realização de parte dos exames. Em média, são utilizadas aproximadamente duas unidades de apoio por estabelecimento.

Todos os estabelecimentos pesquisados realizam análises nas áreas de Bioquímica, Hematologia, Parasitologia, Urinálise, Imunologia e Microbiologia. Análises na área de Micologia são realizadas em apenas nove (45%), Toxicologia em quatro (20%), Citologia em dois (10%) e Biologia Molecular em somente um (5%) dos laboratórios pesquisados. Esses números podem ser reflexo da baixa frequência de requisições para exames micológicos, o que não justifica a manutenção de infraestrutura necessária para a realização desses. Já a Citologia, além de requerer profissionais especializados para a execução, apresenta-se como área de atividade com grande inserção dos médicos especialistas, principalmente em laboratórios de citopatologia. Por fim, as análises toxicológicas e de biologia molecular são técnicas de alto custo e de baixa demanda.[8]

A existência de postos de coleta foi evidenciada em 55%[11] das instituições, sendo a mediana de um posto de coleta por laboratório.

A quantidade de exames realizados pelos laboratórios varia de 600 a 230 mil exames por mês. Nesse contexto, os laboratórios foram categorizados em grupos de acordo com a quantidade média de exames que realiza por mês (Tabela 3).

Tabela 3 - Número de laboratórios que afirmaram possuir acreditação, certificação e/ou sistema de qualidade, segundo o grupo do laboratório

Grupo	Número de Laboratórios	Nº de Laboratórios (%) que afirmaram possuir Acreditação	Nº de Laboratórios (%) que afirmaram possuir Certificação	Nº de Laboratórios (%) que afirmaram possuir Sistema de Qualidade
A	11	5 (45%)	9 (82%)	8 (73%)
B	6	1 (17%)	5 (83%)	5 (83%)
C	3	1 (33%)	2 (67%)	3 (100%)
Total	**20**	**7 (35%)**	**16 (80%)**	**16 (80%)**

Grupo A - Laboratórios que realizam até 10 mil exames/mês; Grupo B - Laboratórios que realizam de 10 a 50 mil exames/mês; Grupo C - Laboratórios que realizam mais de 50 mil exames/mês.

Grupo A – Laboratórios que realizam até 10 mil exames/mês;

Grupo B – Laboratórios que realizam de 10 a 50 mil exames/mês;

Grupo C – Laboratórios que realizam mais de 50 mil exames/mês.

A Tabela 3 também apresenta o número de laboratórios que, em resposta ao questionamento, afirmaram possuir acreditação, certificação e sistema de qualidade implantado. Nesse ponto parece haver confusão dos conceitos em gestão da qualidade por parte de um ou mais dos laboratórios de pequeno porte (Grupo A), pois o número de laboratórios que afirmaram ser certificados foi inferior ao número de laboratórios que relataram possuir sistema de qualidade implantado. Teoricamente, para um laboratório ser certificado é necessário que o mesmo tenha um sistema de qualidade implantado. Não foi observada relação entre o porte do laboratório e a estrutura organizacional da qualidade relatada pelos mesmos. No entanto, percebeu-se uma tendência de implantação de um sistema de qualidade quanto maior for o porte do laboratório. Por outro lado, pode-se inferir que os laboratórios menores encontraram maior facilidade para alcançar acreditação.

Entre as dificuldades mencionadas para a implantação de um sistema da qualidade ressalta-se o depoimento de um laboratório:

"*A maior dificuldade foi passar para a equipe a ideia de gestão da qualidade, após algumas reuniões e esclarecimentos sobre o processo de qualidade, todos se engajaram e naturalmente foi acontecendo o preenchimento de documentos dos procedimentos e registros. Equipe e clientes perceberam a melhora já nos primeiros meses de implantação*." (Laboratório 3)

Quanto à fiscalização do serviço, todos os laboratórios relataram que a inspeção sanitária ocorre anualmente. Por outro lado, quanto à frequência da fiscalização pelos conselhos de classe profissional, dois (10%) laboratórios afirmaram que a inspeção ocorre mensalmente, seis (30%) trimestralmente, três (15%) semestralmente e sete (35%) anualmente. Em geral, a maioria dos laboratórios (19 (95%)) concorda com a frequência de ambas as fiscalizações. No entanto, cabe destacar a declaração de um laboratório:

"*A fiscalização não é efetiva quanto ao exercício da função dos responsáveis técnicos, os laboratórios possuem dúvidas sobre qual órgão deveria averiguar se o farmacêutico/bioquímico está realizando as análises corretamente*". (Laboratório 11)

Quanto ao processo de adequação do laboratório à RDC 302/2005, de forma geral, 13 (65%) laboratórios não relataram resistência dos colaboradores às mudanças necessárias. Os demais, sete (35%), que afirmaram resistência dos envolvidos no início do processo, atualmente estão com a equipe engajada no processo de qualidade. É conhecido que todo processo de mudança naturalmente gera problemas em qualquer aspecto de vida, e em relação à atividade laboratorial esse ponto é crítico, principalmente com os colaboradores com maior tempo de empresa, onde envolve mudanças culturais, de hábitos e de percepção da situação.[9]

O tempo necessário para iniciar a implantação da RDC 302/2005 foi variável. Para três (15%) laboratórios o tempo foi zero, três (15%) ainda estão em processo de adequação, cinco (25%) delongaram seis meses para o início do processo, seis (30%) em torno de um ano, um (5%) dois anos, um (5%) três anos e um (5%) não informou. Contudo, as disposições transitórias da RDC 302/2005 definia o tempo de seis meses para que todos os laboratórios do país se adequassem. Alguns laboratórios relataram que foram alertados pela vigilância sanitária a iniciar as modificações imediatamente, o que provavelmente implicou os diferentes prazos. Cabe destacar que alguns laboratórios pesquisados iniciaram as atividades depois de 2005 e um deles em 2015, podendo este fato ter contribuído para a redução do tempo de implantação da referida resolução. Foram relatadas como dificuldades que as adequações demandam extensa burocracia, gastos e tempo.

O tempo para a adequação à RDC 302/2005 entre os laboratórios pesquisados foi bastante variado. Três (15%) laboratórios afirmaram cumprir todos os requisitos desde a fundação, três (15%) ainda estão em processo de adequação, três (15%) delongaram seis meses para finalizar, seis (30%) um ano, quatro (20%) dois anos e um (5%) mais de dois anos. Possivelmente esse prazo foi curto ou longo de forma dependente do número de adequações necessárias.

Nesse sentido, a literatura relata o período mínimo de um ano e meio para implantação de um sistema da qualidade.[10] Sendo assim, a RDC 302/2005 teria sido muito exigente, para a realidade até então dos laboratórios, em relação ao prazo de seis meses para adequação.

Contudo, do total de vinte laboratórios pesquisados, apenas 12 (60%) consideram que atualmente atendem a todos os requisitos da RDC 302/2005. Esta informação é conflitante com o número (16) de laboratórios que afirmam possuir um sistema de qualidade implantado (Tabela 3). Entende-se que a implantação de um sistema de qualidade envolve, no mínimo, o cumprimento das normas vigentes. Tal fato pode representar uma confusão de entendimento tanto em relação ao atendimento dos requisitos da RDC quanto ao que é um sistema de qualidade.

Todavia, todos os laboratórios pesquisados concordam que a publicação da resolução foi essencial para regulamentar o funcionamento dos laboratórios clínicos e 17 (85%) consideram que os requisitos exigidos na resolução estão em consonância com as necessidades. Em relação às sugestões para atualização/modificação da RDC 302/2005, um (5%) laboratório afirmou que nada deve ser alterado, nove (45%) não responderam e dez (50,0%) sugeriram mudanças. Entre as sugestões para alteração da RDC foram englobados vários aspectos como especificar os requisitos de infraestrutura, atualizar de acordo com a evolução da tecnologia, orientar para o processo de acreditação, definir os profissionais que podem assinar laudos, esclarecer e tornar objetivos os requisitos, considerar os diferentes portes de laboratório, excetuar a exigência de controle interno da qualidade para analitos críticos de baixa estabilidade, definir requisitos relacionados à gestão de riscos e segurança do paciente, e reduzir a burocracia.

A gestão da qualidade foi considerada fundamental, sendo atribuída prioridade 10, em uma escala de 0 a 10, por 40%(8) dos laboratórios participantes, 09 por 10% (2), 08 por 35% e 07 por 15% dos pesquisados. Ficou claro que mesmo aqueles que não possuem a gestão da qualidade implantada reconhecem a importância de atender a este requisito. Porém, 40% (8) dos laboratórios relataram que não há profissionais no mercado com formação para a garantia da qualidade. Todos os laboratórios pesquisados afirmaram que os processos implantados resultaram em melhoria na qualidade do serviço laboratorial. A Tabela 4 apresenta as principais contribuições, entre as alternativas apresentadas, da Gestão da Qualidade para as atividades laboratoriais 4.

Tal fato pode ser observado no relato de um gestor:

"*Qualidade no serviço representa resultados fidedignos de exames, contribuem para a saúde da população e evolução das atividades do estabelecimento, além de se proteger de toda repercussão que pode ocorrer em um município quando há um laboratório liberando resultados insatisfatórios. Mesmo reconhecendo a importância, as contribuições e a necessidade de gerenciar as atividades laboratoriais com qualidade, ainda há muito o que evoluir*." (Laboratório 11)

Tabela 4 - Contribuições da Gestão da Qualidade para as atividades laboratoriais percebidas pelos laboratórios pesquisados

Contribuições da gestão da qualidade	Nº de laboratórios (%)
Melhorar a qualidade dos serviços de saúde	19 (95)
Gerar resultados confiáveis e reprodutíveis	18 (90)
Prevenir de complicações legais que podem seguir da liberação de exames de baixa qualidade	16 (80)
Propiciar resultados interlaboratoriais compatíveis	14 (70)
Motivar os funcionários para melhorar o desempenho	14 (70)
Redução de custos	13 (65)
Acesso a novos mercados	11 (55)
Outros	1 (5)

Quanto aos recursos humanos, 12 (60%) laboratórios possuem mais de uma responsabilidade e responsável técnico (RT) substituto. A falta de substituto pode acarretar ~~em~~ erros laboratoriais graves e pode refletir a esporadicidade das visitas de fiscalização dos respectivos conselhos de classe. Foi observada, em geral, a presença de um RT para cada três a quatro técnicos ou auxiliares de laboratório, sendo suficiente para exercer as atividades de um laboratório de pequeno porte. Contudo, ao verificar essas informações junto ao CNES, foi observado que um (5%) laboratório que afirma possuir mais de uma responsabilidade técnica apresenta apenas um responsável cadastrado. Tal fato coloca sob suspeita as respostas do questionário e o preenchimento inadequado ou desatualizado do CNES.

Em 17 (85%) laboratórios pesquisados há registro de vacinação e 18 (90%) possuem registro dos exames admissionais conforme a Norma Regulamentadora número 7 do Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional (PCMSO da NR-7). Todos os laboratórios pesquisados possuem registro de formação e qualificação dos profissionais. Dezoito (90%) laboratórios promovem treinamento inicial dos colaboradores, mas seis (30%) relataram dificuldade em realizá-lo. Os motivos relatados da dificuldade de treinamento inicial foram vários, alguns laboratórios afirmaram: 1) que há resistência e dificuldade de adaptação dos profissionais, 2) que é burocrático manter os arquivos de treinamento e 3) que é necessário ter disponibilidade de tempo para esta organização. Foi relatado também que muitos colaboradores contratados chegam com "vícios de trabalho" de experiências anteriores, costumam manter a padronização na execução de técnicas utilizadas em outros laboratórios e apresentam dificuldade para se adaptarem às novas metodologias.

Um terço dos estabelecimentos relatou dificuldades para promover a educação continuada dos colaboradores por motivos de resistência dos profissionais envolvidos, falta de interesse, custos e ausência de tempo disponível. Em muitos casos, não há tempo livre durante a jornada de trabalho para implantar este requisito. Dessa forma, incorre na necessidade de realizar atividades fora do horário de trabalho, o que, por conseguinte, gera custos com o pagamento de horas extras. Além disso, foi relatado que alguns colaboradores afirmam ser um processo desnecessário e que acreditam que já desempenham as funções de forma satisfatória, não necessitando de atualização.

Em relação ao requisito infraestrutura, a RDC 302/2005 estabelece como referência a RDC nº 50 de 21/11/2002[11] e suas atualizações. Nesse ponto foi observado que 55% (11) dos laboratórios estão situados em construções específicas e 45% em construções adaptadas. Em dez (50%) laboratórios, as áreas analíticas estão localizadas em uma mesma área física. Contudo, os setores de Microbiologia e Parasitologia estão em áreas exclusivas em praticamente todos os estabelecimentos (19). Isto ocorre provavelmente pelo nível de biossegurança (que de forma geral são dois em um laboratório clínico) requerido pelo setor de Microbiologia, que pode ser três quando realiza cultivo de micobactérias, por exemplo, e assim exige sala separada. A área reservada para o setor de Parasitologia possivelmente deve estar relacionada aos odores gerados pela manipulação das amostras de fezes. Em 15 (75%) laboratórios há área de classificação, triagem e distribuição das amostras, nos demais a triagem é realizada junto ao setor de coleta. Setorizar um laboratório foi considerado, por 13 (65%) laboratórios, que requer investimento elevado, nem sempre é possível devido a problemas de adaptação da sala já construída e que altera a dinâmica de trabalho promovendo resistência de alguns profissionais. Também foi registrado que a adequação à RDC 50/2002 é complexa para os laboratórios de serviços hospitalares que não podem parar suas atividades para realizar obras.

Perfil dos laboratórios quanto aos equipamentos, produtos para diagnóstico de uso *in vitro*, gerenciamento de resíduos e biossegurança

Quanto à disponibilidade de manuais ou instruções de uso dos equipamentos laboratoriais, 95% dos participantes afirmaram dispor de tais documentos para todos os instrumentos em uso. Em relação às manutenções preventivas e corretivas dos equipamentos, foi relatada disponibilidade de instituições especializadas em manutenções, verificações, calibrações, e cursos de capacitação de profissionais do estabelecimento para realização de ações preventivas e corretivas. Tais processos geram custos, mas são essenciais para manter o padrão de qualidade. Contudo, dois (10%) laboratórios pesquisados não possuem registros de manutenções preventivas e corretivas. Essa taxa de não conformidade aumenta para 15% em relação ao processo de registro de verificação e calibração efetivamente realizadas.

Quanto ao controle dos reagentes, 12 (60%) laboratórios utilizam água apenas de ionização para obtenção da água reagente, cinco (30%) de ionização e osmose reversa, um (5%) destilação e osmose reversa, um (5%) apenas osmose reversa e um (5%) apenas ultrafiltração. Contudo, 15 (75%) estabelecimentos pesquisados fazem o controle físico-químico e microbiológico da água reagente produzida e apenas sete (35%) possuem registros do controle da qualidade da água usada no processo analítico. Apenas dois (10%) laboratórios afirmaram ter dificuldade de implantar o controle de qualidade da água, alegando os custos e falta de interesse dos profissionais em participarem desse processo.

Quanto à utilização dos materiais para diagnóstico *in vitro*, 18 (90%) laboratórios possuem registros de aquisição dos produtos, incluindo lote e informação dos fabricantes. Apenas um (5%) laboratório afirmou utilizar metodologias próprias - *in house* (validadas) no processo diagnóstico, nesse caso foi citada metodologia para biologia molecular.

Em relação à implantação do Plano de Gerenciamento de Resíduos (PGR), todos os laboratórios afirmaram realizar o manejo dos resíduos de acordo com a RDC 306/2004.[12] Contudo, foi relatado o descarte de corantes de Hematologia e Microbiologia diretamente na rede fluvial, o que pode sugerir um gerenciamento de resíduos fictício e não efetivo. Além disso, seis (30%) laboratórios afirmaram dificuldades na implantação do PGR, alegando ser um processo caro, burocrático, que exige espaço para o armazenamento interno, e que é necessária capacitação frequente dos funcionários.

Em 17 (85%) laboratórios pesquisados existe manual de Biossegurança, mas 13 (65%) não possuem mapas de risco nos setores. Embora todos os laboratórios possuam manual com instruções, disseminem conhecimentos sobre o assunto, disponibilizem equipamentos de proteção individual (EPI) e coletiva (EPC) para todos os funcionários, três (15%) laboratórios relataram que os profissionais não os utilizam efetivamente. Metade dos laboratórios afirmou ter dificuldades para implantar as práticas de biossegurança, alegando que os profissionais apresentam resistência quanto ao uso dos equipamentos. Como forma de proteção legal ao laboratório e manutenção da saúde dos profissionais, os gestores devem exigir que os funcionários, em ambiente de trabalho, sigam as normas e condutas da empresa, além de promover treinamento, atualizações e capacitação na área. Sugere-se que o colaborador assine um termo de familiaridade dos procedimentos de biossegurança e de recebimento dos EPI.

Perfil dos laboratórios quanto à gestão das fases analítica pré e pós-analíticas

O laboratório deve possuir instruções escritas e atualizadas para todos os processos operacionais e exames realizados. No entanto, apenas 14 (70%) laboratórios pesquisados cumprem esse requisito e apenas um (5%) não possui relação escrita dos exames realizados pelo laboratório e dos exames terceirizados, descumprindo o requisito 6.2.3 da RDC 302/2005.

Apenas três (15%) laboratórios afirmaram realizar testes laboratoriais remotos (TLR), e 2/3 destes possuem registro do controle da qualidade dos mesmos. Entre as dificuldades para cumprimento deste requisito foi relatada a alta demanda por capacitação frequente dos profissionais que o executam, devido à rotatividade dos mesmos. A literatura sobre TLR realmente evidencia a necessidade de educação, treinamento e supervisão das atividades desenvolvidas com estes equipamentos.[13,14]

Na fase pré-analítica dos processos operacionais, é essencial instruir corretamente o paciente para o preparo e coleta da amostra.[15] Apesar da RDC 302/2005 permitir que as orientações para a realização de exames sejam repassadas apenas verbalmente, este processo pode gerar esquecimento e confusão ao paciente. Dez (50%) laboratórios pesquisados fazem a orientação de forma verbal e escrita, cinco (25%) de forma verbal, escrita e *on-line*, três (15%) apenas verbalmente e dois (10%) fornecem orientações apenas escritas.

A rastreabilidade da amostra na fase pré-analítica também é um processo fundamental.[5] Dezoito (90%) laboratórios possuem rastreabilidade no recebimento e coleta da amostra, mas cinco (25%) estabelecimentos apresentaram dificuldades para implantar este requisito, afirmando que há resistência dos colaboradores e problemas para criar o interfaceamento. Todos os laboratórios possuem critérios de aceitação e de rejeição de amostra.

O transporte do material biológico é realizado de diversas formas pelos laboratórios pesquisados. A utilização de caixas térmicas é a principal forma de transporte de amostras, representando 13 laboratórios (65%), dois (10%) utilizam maletas, três (15%) caixas térmicas e maletas e dois (10%) laboratórios ainda fazem uso de caixas de isopor, as quais não são higienizáveis conforme requerido pela RDC 302/2005. A temperatura de transporte das amostras não é monitorada por oito (40%) laboratórios. Além disso, dez (50%) laboratórios não possuem registros da temperatura de transporte e 13 (65%) relataram dificuldades para implantar esse controle no transporte, alegando resistência dos profissionais, diversidade de envolvidos no processo e falta de regras para padronização do transporte.

Para a fase pós-analítica, o estabelecimento de valores críticos ou de alerta para analitos foi considerada importante pelos laboratórios e fundamental para o processo diagnóstico. Todos os laboratórios relataram realizar comunicação com médico, responsável ou paciente. Entretanto, um (5%) laboratório declarou não possuir valores críticos ou de alerta definidos. Tal fato parece contraditório, ou, no mínimo, representa desconhecimento sobre o significado de valores críticos. Quatro (20%) laboratórios pesquisados relataram dificuldades para implantar este requisito de qualidade, alegando que a interação com os médicos nem sempre é bem aceita pela categoria médica. Em geral, essa interação apresenta-se mais comumente em laboratório de serviço hospitalar.

Dezessete (85%) laboratórios pesquisados possuem instruções por escrito para emissão de laudos. Sete (35%) participantes disponibilizam os laudos apenas na forma impressa e 13 (65%) também na forma *on-line* para agilizar e facilitar o acesso ao resultado. Noventa por cento dos estabelecimentos adicionam comentários nos laudos para auxílio na interpretação dos resultados. Apenas nove (45%) laboratórios realizam o registro da retificação de laudos.

O arquivamento dos resultados de exames e dados brutos é realizado por todos os laboratórios por períodos que variam entre 5 (16 laboratórios - (80%) a 25 anos (um laboratório - (5%). Dezenove (95%) laboratórios afirmaram que, se necessário, os laudos laboratoriais estão acessíveis.

Todos os laboratórios realizam a notificação de doenças de notificação compulsória.

Em relação às diferentes formas de definição dos valores de referência, oito (40%) laboratórios pesquisados utilizam valores de referência de diretrizes, seis (30%) de diretrizes e instruções de trabalho (IT) de fabricantes de reagentes, dois (10%) apenas de IT, dois (10%) de IT e de pesquisa populacional local, um (5%) de diretrizes e de pesquisa populacional local, e apenas um (5%) definiu os valores de referência utilizando diretrizes, IT e pesquisa populacional.

Perfil dos laboratórios quanto à garantia da qualidade

Em relação à garantia da qualidade, 19 (95%) laboratórios realizam controle interno da qualidade de todos os parâmetros analisados e seis (30%) afirmaram que foi difícil implantar esse requisito da qualidade. Por outro lado, apenas 14 (70%) laboratórios realizam controle externo de qualidade de todos os parâmetros analisados e nove (45%) apresentaram dificuldades para implantar esse requisito. Para a garantia da qualidade, os participantes demonstraram dificuldades para implantar o Controle Interno da Qualidade (CIQ) afirmando que o custo mensal é elevado e há dificuldades para encontrar controles comerciais para todos os analitos. Alguns laboratórios relataram que reduzi-

ram de três para apenas uma amostra controle por dia para reduzir os custos. Neste requisito destacamos o depoimento do laboratório 2.

"*Não há material de controle disponíveis para algumas análises, realizamos controle interno alternativos, por exemplo, amostra em duplicata e duplo cego de leitura microscópica*." (Laboratório 2)

Quinze (75%) laboratórios monitoram o processo de CIQ analítica por mapas de controle e 14 (70%) participantes possuem registros de ações corretivas adotadas devido à rejeição de amostras controle. Cinquenta por cento (10) dos laboratórios relataram dificuldades para implantação destes requisitos devido aos custos e tempo dispendido no processo.

Nove (45%) laboratórios relataram apresentar dificuldades para implantar o Controle Externo da Qualidade (CEQ) devido ao custo mensal para participar dos programas e reclamaram que alguns provedores não possuem amostras controle para todos os analitos. Uma alternativa utilizada pelos estabelecimentos foi a comparação interlaboratorial viabilizada com os laboratórios de apoio. Contudo, a RDC 302/2005 prevê a participação em ensaio de proficiência e somente quando não há disponibilidade no mercado é que são permitidas formas alternativas de CEQ.

Treze (65%) laboratórios monitoram o processo de CEQ por mapas de controle e 14 (70%) participantes possuem registros das ações corretivas adotadas devido a resultados inaceitáveis no controle externo. Doze (60%) laboratórios apresentaram dificuldades para implantação destes requisitos.

Dezoito (90%) laboratórios utilizam indicadores da qualidade como ferramenta de avaliação dos processos do serviço. A maioria dos estabelecimentos relatou dificuldades na implantação dos indicadores, alegando a necessidade de registros e de estudos para a interpretação correta e que os recursos humanos existentes não são comprometidos em fazê-los.

Monitorar o processo operacional é fundamental para o controle da qualidade, mas nem todos os laboratórios fazem uso de mapas de controle e possuem registros de ações corretivas adotadas devido à rejeição de amostras controle. Apenas oito (40%) dos laboratórios pesquisados atendem este requisito, 11 (55%) realizam ações corretivas mas não possuem mapas e planos e um (5%) possui plano de ações corretivas e utiliza múltiplas regras de controle de qualidade mas não possui mapas. As dificuldades para implantação desses requisitos são semelhantes no CIQ e CEQ: é necessário dedicar tempo, possuir registro efetivo dos resultados dos controles e ações, os recursos humanos existentes não são comprometidos em registrar e falta conhecimento para desenvolvimento e interpretação correta dos mapas de controle e planos de ações.

De forma geral, os requisitos da qualidade menos cumpridos foram: instruções escritas e atualizadas para todos os processos analíticos realizados; controle físico-químico e microbiológico da água utilizada, controle externo de qualidade de todos os analitos analisados; presença de responsável técnico substituto; monitoramento e registro da temperatura de transporte de amostras; mapa de risco do laboratório; e registro da retificação de laudos. Por outro lado, os requisitos da qualidade mais cumpridos foram: registro de formação dos profissionais; projeto físico aprovado pela Anvisa; instruções e registros de manutenções e calibrações de todos os equipamentos; registro de aquisição de reagentes; rotulagem adequada de reagentes aliquotados; EPIs e EPCs disponíveis; critérios de aceitação e rejeição de amostras; relação por escrito dos exames terceirizados; valores críticos para analitos; comunicação com o médico; notificação compulsória; tempo de arquivamento de laudos e dados brutos; controle interno da qualidade de todos os analitos.

A RDC 302/2005 possui aproximadamente 151 requisitos para garantia da qualidade laboratorial. A ferramenta de pesquisa utilizada nesse estudo envolveu 129 questões objetivas e subjetivas, das quais 38 estão diretamente ligadas aos requisitos da resolução. Os laboratórios do Grupo B apresentaram-se como os que mais cumprem os requisitos da RDC (deixam de cumprir em média 3,6 requisitos) e os do Grupo C os que menos cumprem (deixam de cumprir em média 7 requisitos) (Tabela 5). Contudo, a quantidade de membros do Grupo C não é suficientemente representativa para a significância desta análise. Ao mesmo tempo em que, sabidamente, os laboratórios de grande porte (Grupo C) investem mais em qualidade, provavelmente o cumprimento de alguns requisitos da qualidade seja mais complexo por contar com maior número de colaboradores e dessa forma maior dificuldade de implementação de processos e mudança de cultura.

Os estabelecimentos de pequeno porte (Grupo A, que deixa de cumprir em média 5,7 requisitos) relataram dificuldades para implantar os requisitos da RDC e realizar as atividades de gestão, problema provavelmente decorrente do acúmulo de diversas funções pelo responsável técnico no laboratório (analista-clínico, administrador, gestor de qualidade, etc.). Contudo, nove (45%) laboratórios não informaram dificuldades para implantação dos requisitos da RDC 302/2005 e 11 (55%) estabelecimentos relataram dificuldades em vários aspectos da implantação da resolução: critérios de aceitação e transporte de amostras, documentação de todas as técnicas realizadas, implantação da gestão da qualidade, da biossegurança, dos resíduos. Além disso, fizeram crítica à burocracia, à dificuldade do controle interno da qualidade para analitos com baixa estabilidade e das exigências legais serem as mesmas, independente do porte dos laboratórios.

Tabela 5 - Quantidade de requisitos da RDC 302/2005 não cumpridos pelos laboratórios participantes.

Laboratório	Grupo a que pertence	Nº de requisitos que relatou não cumprir do total de 38 itens avaliados
1	C	17
2	B	7
3	B	0
4	A	11
5	A	3
6	C	0
7	B	6
8	A	6
9	A	2
10	B	4
11	A	4
12	A	5
13	A	2
14	A	8
15	A	13
16	B	1
17	A	7
18	A	2
19	B	4
20	C	4

*Grupo A - Laboratórios que realizam até 10 mil exames/mês;
Grupo B - Laboratórios que realizam de 10 a 50 mil exames/mês;
Grupo C - Laboratórios que realizam mais de 50 mil exames/mês.

Por fim, os vinte estabelecimentos participantes relataram que a RDC 302/2005 é essencial para o funcionamento dos laboratórios e os requisitos existentes estão em consonância com as necessidades do mercado. No entanto, sugerem que a resolução deve ser atualizada com maior frequência e apontaram a necessidade de requisitos mais claros e objetivos, como os de infraestrutura, sobre os profissionais habilitados a assinar laudos, sobre a gestão de riscos e segurança do paciente.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A "qualidade" já foi um diferencial de mercado e hoje é uma condição de sobrevivência em todos os segmentos da prestação de serviços. Apesar das diretrizes para assegurar a qualidade e requisitos básicos para o funcionamento de laboratórios, ainda assim é comum observarmos no Brasil laboratórios diante de resultados insatisfatórios, com dificuldade de identificar as possíveis causas e definir ações que corrijam o problema para prover resultados mais confiáveis.[9]

Neste estudo foi possível perceber que qualidade nos serviços de saúde ainda é um desafio no Brasil. Segundo os relatos dos participantes, entre os desafios está a falta de profissionais capacitados e comprometidos com a gestão da qualidade. Oliveira e Mendes[9] afirmam que a rápida evolução dos processos também tem exigido um melhor preparo dos profissionais e a adoção de ferramentas de gestão eficazes por parte dos laboratórios para assegurar a qualidade dos resultados. E a formação em garantia da qualidade na área da saúde ainda está em processo de evolução no país, o que implica a falta de gestores para o setor.

Outra dificuldade relatada pelos participantes para a adequação à RDC 302/2005 foi o custo envolvido. Nesse contexto, tabelas desatualizadas de planos de saúde, atraso no recebimento de recursos públicos e diminuição dos valores de exames por parte dos concorrentes são motivos que afetam a estabilidade financeira do setor e, de acordo com os laboratórios pesquisados, dificultam a implantação da garantia da qualidade. Entretanto, nesse sentido, programas de educação para a qualidade possuem fundamentos básicos e importantes para combater desperdícios.[3]

Mesmo diante dessas dificuldades, a maioria dos laboratórios participantes afirmou possuir sistema de qualidade implantado e uma quantidade significativa relatou ter certificação da qualidade. Sessenta por cento dos estabelecimentos relataram cumprir integralmente os requisitos da RDC 302. No entanto, ao analisarmos as demais respostas da ferramenta de pesquisa, foi possível observar que a implantação não é integral. Apenas dois laboratórios cumprem todos os 38 requisitos da RDC 302 avaliados por meio do questionário (Tabela 5).

Com este estudo observamos a necessidade de maior conhecimento dos conceitos e ferramentas de gestão para os laboratórios, o que pode ser o início da solução para as dificuldades apresentadas. Assim dizia São Francisco de Assis, "*Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível e de repente você estará fazendo o impossível*."

Abstract

Objective: *To asses a decade after the publishment, if the clinical analysis laboratories from the state of Santa Catarina fulfill the requirements of the RDC 302/2005.* ***Methods:*** *The informations regarding the laboratories were obtained on the CNES. A questionnaire was elaborated based on the RDC and used as research tool that was sent to the laboratories.* ***Results:*** *From the total of 523 laboratories registered on the CNES, 198 were contacted and only 20 answered the questionnaire. The participating laboratories reported that the RDC 302/2005 is essential for the functioning of laboratories. The time to start the implementation of the RDC took on average a year and the time for complete the process, also a year. Twelve of establishments reported meet the resolution's requirements. However, of the 38 requirements of the RDC 302 evaluated, only 2 laboratories meet all the criteria. The labeling requirements of reagents, equipment's temperature control record, medical waste management, communication of critical values, notification of results that indicate notifiable disease and archiving of reports and gross data were fulfilled by all laboratories. The registration of the sample transport temperature requirement was the requirement fulfilled by the smallest number of laboratories, only 10. The difficulties related to implementation*

of the requirements were mainly in management and quality assurance, records, implementation of biosafety knowledge and resistance of employees to the change process. ***Conclusion:*** *More studies in the concepts of management, quality and standardization system processes are needed in the laboratory and can be one solution to the problems presented.*

Keywords
Quality management; Quality assurance; Quality control; Total quality; Clinical laboratory

REFERÊNCIAS

1. Burtis CA, Ashwood ER, Tietz NW, Bruns DE (Ed.). Tietz, Fundamentos de química clínica. 6 ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier; 2008.
2. Vieira KF, Shitara ES, Mendes ME, Sumita NM. A utilidade dos indicadores da qualidade no gerenciamento de laboratórios clínicos J Bras Patol Med Lab. 2011 Jun;47(3):201-10.
3. Biasoli MM e Oliveira CA. Programa 5S - Control Lab. 2005. Disponível em: http://www.controllab.com.br/pdf/manual_5s_2005.pdf. [acesso em 28 out 2016]
4. Mendes ME. Gestão por processos no laboratório clínico: uma abordagem prática. São Paulo: EPR Ed, 2007.
5. 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.
6. Minayo MCS, Assis SG, Souza ER. Avaliação por triangulação de métodos: abordagem de programas sociais. 20 ed. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2005.
7. Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde (CNES). Disponível em http://cnes2.datasus.gov.br/. [acesso em 10 jan 2016]
8. Baffert S, Italiano A, Pierron G, Traoré MA, Rapp J, Escande F, et al. Comparative cost analysis of molecular biology methods in the diagnosis of sarcomas. Bull Cancer. 2013 Oct;100(10):963-71. doi: 10.1684/bdc.2013.1822.
9. Oliveira CA e Mendes ME. Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar a qualidade na prática. 1ª ed. Rio de Janeiro: ControlLab, 2010.
10. Vendrell X, Carrero R, Alberola T, Bautista-Llácer R, García-Mengual E, Claramunt R, Pérez-Alonso M. Quality management system in PGD/PGS: now is the time. J Assist Reprod Genet. 2009 Apr; 26 (4):197-204. doi: 10.1007/s10815-009-9307-9.
11. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no.50, de 21 de fevereiro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde.
12. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no.306, de 7 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.
13. Nichols JH. Quality in point-of-care testing: taking POC to the next level. Accred Qual Assur. 2006 Jun;11(6)273-7. doi: 10.1007/s00769-006-0130-z.
14. Plebani M. Laboratory network of excellence: enhancing patient safety and service effectiveness. Clin Chem Lab Med. 2006 44(2):150-60. doi: 10.1515/CCLM.2006.028.
15. SBPC. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): coleta e preparo da amostra biológica. - Barueri, SP: Manole: Minha Editora, 2014.

Correspondência
Gustavo Henrique Lescowicz
Rua Delfino Conti s/n, sala 109, bloco K
Departamento de Análises Clínicas, Centro de Ciências da Saúde,
Universidade Federal de Santa Catarina - Trindade
88040900 – Florianópolis-SC, Brasil

Novos valores de referência veterinários para volume plaquetário médio (MVP), amplitude de distribuição plaquetária (PDW) e plaquetócrito (PCT) na microrregião de Curitibanos

New veterinary reference values for mean platelet volume (MVP), platelet distribution width (PDW) and platelet count (PCT) in the Curitibanos microregion

Maurício Eduardo Mezaroba[1]
Julia Thomé[1]
Lorena Rodrigues Ramos Peres[1]
Gabriela Rodrigues[1]
Angela Patricia Medeiros Veiga[2]

Resumo
Objetivo: O objetivo desse estudo foi elaborar os valores de referência desses parâmetros, baseado na casuística do Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LaClin) da Universidade Federal de Santa Catarina para a microrregião de Curitibanos. **Métodos:** Avaliaram-se os novos índices plaquetários MPV, PDW e PCT de 100 caninos (41 machos e 59 fêmeas) e 40 felinos (13 machos e 27 fêmeas) saudáveis, atendidos no período de junho de 2015 até agosto de 2017 na faculdade de Medicina Veterinária da UFSC, na microrregião de Curitibanos, Santa Catarina. O valor de referência para MPV e PDW foi elaborado de acordo com a média dos valores obtidos dos animais avaliados ± 2 desvios-padrão, e, para PCT, utilizou-se ± 1 DP. **Resultados:** Os valores de referência de MPV(fL), PDW(%) e PCT(%) [média (limite inferior - limite superior)] propostos para caninos foram, respectivamente 9,08 (7,44 - 10,71), 16,07 (15,32 -16,82) e 0,32 (0,21-0,42), e para felinos, respectivamente 9,90 (8,07-11,74), 16,26 (15,21-17,32) e 0,24 (0,11-0,37). **Conclusão:** Os valores encontrados no presente estudo não condizem com outros estudos ou nunca foram investigados.

Palavras-chave
Plaquetas; Plaquetometria; Animais domésticos

INTRODUÇÃO

A composição do sangue divide-se em duas partes: uma líquida e outra celular, sendo que a última abrange hemácias, leucócitos e plaquetas.(1) Em mamíferos, as plaquetas são resultado da fragmentação de pseudópodes citoplasmáticos de megacariócitos.(2)

A avaliação do trombograma é utilizada como um auxílio na rotina do clínico para o diagnóstico de enfermidades que afetam a hemostasia primária.(1) A linhagem eritroide possui índices já bem estabelecidos que auxiliam, por exemplo, na avaliação da resposta medular à anemia, no entanto, a linhagem megacariocítica não é bem caracterizada na sua classificação, terapêutica, acompanhamento e prognóstico, possuindo dados trombométricos escassos, limitando-se à avaliação da medula óssea para estipular um diagnóstico de regeneração.(3)

A utilização do método Fonio (um método estimativo que utiliza a comparação do número de plaquetas com o de eritrócitos por campo) para avaliação microscópica de plaquetas pode resultar em uma falsa contagem, visto que as amostras estão sujeitas a mal distribuição de plaquetas por campo, totalizando um número incorreto. É considerado um método de baixa acurácia em comparação aos métodos automatizados, onde a contagem é feita por sistemas de variação de impedância e/ou ópticos, os quais resultam em uma maior precisão, além de permitir avaliar variações no tamanho e detectar a presença de agregados.(4,5)

O incremento da tecnologia na patologia clínica veterinária oferece a possibilidade de novas avaliações para auxiliar no diagnóstico clínico. A automação da hematologia permitiu uma facilidade na avaliação de parâmetros sanguíneos que ainda não foram padronizados na medicina veterinária, como os índices plaquetários.(6) Tais índices são marcadores potencialmente úteis para o diagnóstico precoce de doenças da hemostasia.(7) Exceto a contagem de plaquetas (PLT), os outros índices, como volume

[1]*Acadêmico(a) de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – Curitibanos-SC, Brasil.*
[2]*Doutorado / Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC (Professor Adjunto) – Curitibanos-SC, Brasil.*

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina – Campus Curitibanos – Curitibanos-SC, Brasil.

Recebido em 12/01/2018
Artigo aprovado em 23/08/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800668

plaquetário médio (MPV), amplitude de distribuição plaquetária (PDW) e plaquetócrito (PCT), são parâmetros que ainda não possuem valores de referência para a região sul do Brasil.

O objetivo desse estudo foi elaborar os valores de referência desses índices plaquetários MPV, PDW e PCT em cães e gatos, baseado na casuística do Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LaClin) da Universidade Federal de Santa Catarina para a microrregião de Curitibanos.

MATERIAL E MÉTODOS

Avaliaram-se os novos índices plaquetários MPV, PDW e PCT de 100 caninos (41 machos e 59 fêmeas) e 40 felinos (13 machos e 27 fêmeas) saudáveis, atendidos no período de junho de 2015 até agosto de 2017 na faculdade de Medicina Veterinária da UFSC, na microrregião de Curitibanos, Santa Catarina. Os animais haviam sido submetidos a exames clínico e laboratoriais pré-operatórios para cirurgias eletivas subsequentes. A triagem era composta por exame físico (aferição da temperatura retal, frequências cardíaca e respiratória, turgor cutâneo, tempo de preenchimento capilar, avaliação de linfonodos, inspeção de mucosas, ausculta cardíaca e pulmonar, palpação abdominal e inspeção da genitália externa) e laboratorial (hemograma completo, ALT, FA, albumina, ureia e creatinina) para confirmar a higidez, sendo que animais com alterações em quaisquer dos supracitados exames foram descartados do projeto.

Realizou-se a colheita de sangue venoso em tubos com anticoagulante [ácido etileno diaminotetracético (EDTA) a 10%] para realização do hemograma em analisador hematológico automático veterinário (BC 2800 Vet®, Mindray, China). As amostras foram conferidas quanto à presença de coágulos ou fibrina no tubo, bem como agregados plaquetários no esfregaço sanguíneo, e foi realizada a estimativa do número de plaquetas por microscopia óptica. Descartaram-se amostras que apresentavam o número total de plaquetas fora do intervalo de referência (200.000 a 500.000 plaquetas/µL para cães e 300.000 a 800.000 plaquetas/µL para gatos), proposto por Meyer & Harvey.[8] O valor de referência para MPV e PDW foi elaborado calculando-se a média dos valores obtidos ± 2 desvios-padrão, e, para PCT, média ± 1 DP.

Os resultados foram inicialmente avaliados quanto à normalidade por meio da aplicação do teste Kolmogorov-Smirnov, em que foi observada uma curva de distribuição normal. A seguir foi avaliada, e para cada variável, a média ±1 (PCT) ou 2 (demais parâmetros) DP foram utilizados para o cálculo dos valores de referência. De acordo com Kaneko,[9] deve-se utilizar a média 2 DP. Preferiu-se utilizar média ± 1DP para a variável PCT, devido ao fato de o DP calculado ser mais alto que as demais variáveis, os valores de referência mínimos mostrando-se negativos em alguns casos.

Ética

Para o presente experimento, não houve manipulações com animais. As amostras foram obtidas da rotina laboratorial (colhidas em aulas práticas ou enviadas ao laboratório da universidade por clínicos veterinários autônomos). Tais manipulações com os animais foram realizadas de acordo com os critérios determinados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

RESULTADOS

Os valores de referência de MPV, PDW e PCT propostos para caninos, referentes à média ± 1 ou 2 DP, conforme especificado da metodologia do estudo, foram respectivamente 9,08 (7,44-10,71), 16,07 (15,32-16,82) e (0,32; 0,21 - 0,42) e, para felinos, 9,90 (8,07 - 11,74), 16,26 (15,21-17,32) e 0,24 (0,11-0,37) para a microrregião de Curitibanos, Santa Catarina, estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 - Média, limite inferior e limite superior propostos, respectivamente, para o trombograma, por espécie, na microrregião de Curitibanos, Santa Catarina - Jun 2015 / Ago 2017

Espécie	VPM** (fl)	PDW*** (%)	PCT**** (%)
Canino*	9,08; 7,44-10,71	16,07; 15,32-16,82	0,32; 0,21-0,42
Felino*	9,90; 8,07-11,74	16,26; 15,21-17,32	0,24; 0,11-0,37

Fonte: Laboratório de Analises Clínicas Veterinárias (LAClin) - UFSC.
*Média ±1 (PCT) ou 2 (demais parâmetros) DP.
**VPM (volume plaquetário médio);
*** PDW (amplitude de distribuição paquetária);
****PCT (plaquetócrito).

DISCUSSÃO

Os valores de referência de MPV, PDW e PCT para caninos propostos no presente estudo não corresponderam aos valores propostos para a região norte do Brasil,[6] que obtiveram os respectivos resultados: 12,54-14,00fL (VPM), 19,85-20,48% (PDW) e 0,33-0,39% (PCT), ou Rio de Janeiro,[10] possivelmente devido às diferenças no ambiente em que os animais vivem ou há diferenças entre os equipamentos utilizados. Tanto a eritropoietina quanto a trombopoietina consistem nos principais estímulos à trombopoese e liberação de plaquetas na corrente sanguínea.[11] Quando a trombopoese é estimulada, plaquetas de tamanho maior são liberadas,[12] com influências na contagem plaquetária, bem como nos índices VPM e PDW. A concentração plasmática dos mencionados hormônios varia de acordo com a pressão atmosférica; assim, animais que habitam diferentes regiões geográficas possivelmente tenham estímulos diferenciados.

Não foram encontrados valores de referência de MPV, PDW e PCT para felinos na literatura, para comparação com os valores obtidos.

Estudos anteriores associaram o hipotireoidismo canino a maiores contagens plaquetárias e menores volumes de plaquetas, enquanto que felinos com hipertireoidismo apresentaram volume plaquetário médio significativamente maior do que os controle, sem diferenças significativas na contagem de plaquetas em felinos.[13] Estudos anteriores associaram várias modificações nos parâmetros plaquetários em cães e gatos apresentando doenças inflamatórias.[14] Além disso, o VPM e o plaquetócrito podem ser utilizados para avaliação da recuperação da trombocitopenia imunomediada em cães e gatos, já que aumentaram antes do aumento da contagem plaquetária, nestas condições.[15] Estes dados demonstram a importância da análise dos novos parâmetros na rotina de diagnóstico do médico veterinário.

CONCLUSÕES

A determinação dos valores de referência do trombograma para a microrregião de Curitibanos possibilita uma melhora no diagnóstico clínico. Além disso, os valores de referência encontrados no presente estudo não condizem com outros estudos ou nunca foram investigados anteriormente.

Abstract

Objective: *The objective of this study was to elaborate reference ranges of these indices based on the routine of Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LaClin) from Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) for Curitibanos micro region.* ***Methods:*** *The new MPV, PDW and PCT platelet parameters of 100 healthy dogs (41 males and 59 females) and 40 cats (13 males and 27 females) were evaluated from June 2015 to August 2017 at UFSC Veterinary Medicine Faculty, in the micro region of Curitibanos, Santa Catarina. The reference range for MPV and PDW was calculated considering the mean value ± 2 SD, and for PCT mean ± 1 SD.* ***Results:*** *The proposed MPV (fL), PDW (%), and PCT(%) [mean (lower limit - higher limit)] canine reference values were respectively 9.08 (7.44-10.71), 16.07 (15.32-16.82), and 0.32 (0.21-0, 42), and feline were 9.90 (8.07-11.74), 16.26 (15.21-17.32), and 0.24 (0.11-0,37).* ***Conclusion:*** *The values found in the present study are not consistent with other studies or have not been previously investigated.*

Keywords

Platelets; Platelet count; Animals domestic

REFERÊNCIAS

1. González FHD, Silva SC. Patologia clínica veterinária: texto introdutório. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.
2. Kaushansky K. Historical review: megakaryopoiesis and thrombopoiesis. Blood. 2008 Feb 1;111(3):981-6. doi: 10.1182/blood-2007-05-088500
3. Silva LFN. Plaquetas reticuladas na avaliação da trombopoiese medular em cães. 2009. [dissertação]. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Estadual Paulista, UNESP, 2009.
4. Michelson AD. Flow Citometry: a clinical test of platelet function. Blood. 1996 Jun 15;87(12):4925-36.
5. Harrison P, Horton A, Grant D, Briggs C, MacHin S. Immunoplatelet counting: a proposed new reference procedure. Br J Haematol. 2000 Feb;108(2):228-35.
6. Ferreira GS, Carlos G, Masson IH, Galvão ALB, Léga E, Meneses AMC, Souza AMA. Determinação de novos parâmetros do hemograma em cães saudáveis da região norte do brasil. Arch Vet Sci. 2011;16(2):35-40.
7. Vagdatli E, Gounari E, Lazaridou E, Katsibourlia E, Tsikopoulou F, Labrianou I. Platelet distribution width: a simple, practical and specific marker of activation of coagulation. Hippokratia. 2010 Jan;14(1):28-32.
8. Meyer DJ, Harvey JW. Veterinary laboratory medicine. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders,1998.
9. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss M. Clinical biochemistry of domestic animals. 6th ed. London: Elsevier Inc., 2008.
10. Souza AM, Pereira JJ, Campos SDE, Torres-Filho RA, Xavier MS, Bacellar DTL, et al. Índices plaquetários em cães com trombocitopenia e cães com contagem normal de plaquetas. Arch Med Vet. 2016; 48:277-81.
11. Cunningham JG, Klein BG. Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology. 5th ed. Missouri, USA: Elsevier-Saunders, 2013.
12. Thrall MA, Baker DC, Campbell TW, DeNicola, D, Fettman MJ, Lassen ED, Rebar A, Weiser G. Veterinary hematology and clinical chemistry. Iowa: John Wiley & Sons, 2012.
13. Sullivan P, Gompf R, Schmeitzel L, Clift R, Cottrell M, McDonald TP. Altered platelet indices in dogs with hypothyroidism and cats with hyperthyroidism. Am J Vet Res. 1993 Dec;54(12):2004-9.
14. Smith JR, Smith KF, Brainard BM. Platelet parameters from an automated hematology analyzer in dogs with inflammatory clinical diseases. Vet J. 2014 Sep;201(3):406-11. doi:10.1016/j.tvjl. 2014. 07.009.
15. Schwartz D, Sharkey PJ, Armstrong C, Knudson C, Kelley J. Platelet volume and plateletcrit in dogs with presumed primary immune-mediated thrombocytopenia. Mediated Thrombocytopenia. J Vet Intern Med. 2014 Sep-Oct;28(5):1575-9. doi: 10.1111/jvim.12405.

Correspondência

Angela Patricia Medeiros Veiga

Av. Advogado Sebastião Calomeno, s/n.

Bairro Cebtro

89520-000 - Curitibanos-SC, Brasil

Análise comparativa de contagens de plaquetas entre metodologias de impedância e óptica em amostras de sangue de indivíduos hospitalizados

Comparative analysis of platelet count between electrical impedance and optical platelet count methods in blood samples from hospitalized individuals

Thamires Aparecida Dzirba[1]
Laura Mattana Dionísio[2]
Jéssica Rodrigues Fabro[1]
Gisele Aparecida Langoski[1]
Bruno Ribeiro Cruz[3]
Jeanine Izabel Margraf Bittencourt[4]
Everson Augusto Krum[3]
Danielle Cristyane Kalva Borato[5]
Mariane de Faria Moss[3]

Resumo
Objetivo: Comparar resultados de contagens plaquetárias em amostras de sangue de indivíduos hospitalizados realizadas por impedância (PLT-I) e metodologia óptica fluorescente (PLT-O). **Métodos:** Em estudo retrospectivo, foram avaliados dados sequenciais arquivados de contagens plaquetárias em amostras de sangue de trezentos indivíduos adultos hospitalizados, incluindo casos de anemias microcíticas e hemolíticas, neoplasias hematológicas, entre outras doenças. Todos os casos continham contagens de plaquetas PLT-I e PLT-O realizadas no equipamento Sysmex XE-5000. **Resultados:** Não houve diferença significativa entre os valores de contagens plaquetárias entre a PLT-I e PLT-O (p=0,614). Quando avaliamos os valores de plaquetas entre diferentes grupos em relação às metodologias, não houve diferença entre as contagens plaquetárias naqueles com VCM abaixo de 80 fL (p=0,936), VCM abaixo de 70 (p=0,821), plaquetas abaixo de $100x10^9$/L (p=0,369) e plaquetas abaixo de $50x10^9$/L (p=0,314). Além disso, a correlação entre PLT-I e PLT-O foi forte. **Conclusão:** Os valores de contagens plaquetárias, provenientes de amostras de sangue de pacientes não saudáveis, realizadas no analisador XE-5000 pelos métodos óptico e impedância, mostraram forte correlação e boa concordância.

Palavras-chave
Plaquetometria; Plaquetas; Paciente hospitalizado

INTRODUÇÃO

A contagem plaquetária precisa é fundamental para a avaliação do paciente com risco de sangramento e decisões clínicas, principalmente em situações de risco de hemorragias espontâneas e formação de trombos, devido à plaquetopenia acentuada[1] ou trombocitose,[2] respectivamente.

As diretrizes da *American Association of Blood Banks* (AABB) de 2014 estabelecem valores de corte para direcionar a indicação transfusional. Segundo a AABB, há indicação transfusional se a contagem de plaquetas for igual ou inferior a $10x10^9$/L em adultos hospitalizados ou abaixo de $20x10^9$/L para adultos com acesso venoso central.[1] No entanto, sabe-se que nas trombocitopenias acentuadas é observada maior discrepância na contagem de plaquetas em analisadores hematológicos que utilizam metodologias convencionais,[3,4] como a impedância elétrica (PLT-I), e isso pode interferir diretamente na decisão clínica transfusional.

A PLT-I é um método preciso em casos com valores de contagens plaquetárias referenciais. Por outro lado, as contagens utilizando PLT-I tornam-se menos precisas quando os valores de plaquetas encontram-se abaixo de $20x10^9$/L, isso ocorre devido à diminuição da confiança estatística, menos eventos analisados e a crescente influência de matéria plasmática não plaquetária.[4,5]

[1]*Graduanda em Farmácia pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) – Ponta Grossa-PR, Brasil.*
[2] *Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Paraná (UFPR), Farmacêutica no Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais (HURCG) - Ponta Grossa-PR, Brasil.*
[3]*Doutor(a) em Medicina (Hematologia) pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Professor da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) - Ponta Grossa-PR, Brasil.*
[4]*Mestre em Saúde Pública pela Fundação Oswaldo Cruz, Professora da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) - Ponta Grossa-PR, Brasil.*
[5]*Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Professora da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) - Ponta Grossa-PR, Brasil.*

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) – Ponta Grossa-PR, Brasil.

Recebido em 15/11/2017
Artigo aprovado em 23/08/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800647

Segundo a *ISLH (International Society for Laboratory Hematology)* e a ICSH (*International Council for Standardization in Haematology*), o método de referência internacional para a contagem de plaquetas é o imunológico por citometria de fluxo. Essa metodologia é indicada para avaliar a exatidão e a precisão de outros métodos automatizados utilizados na quantificação plaquetária, principalmente em amostras trombocitopênicas.[6,7] A desvantagem do método imunológico por citometria de fluxo é o maior custo e, por esse motivo, não está disponível na rotina da maioria dos laboratórios clínicos.

Com a evolução tecnológica e a busca contínua por melhoriais na área laboratorial clínica, outras metodologias foram desenvolvidas e atualmente temos disponível, em alguns analisadores, a contagem óptica fluorescente de plaquetas (PLT-O).

Esse sistema de contagem utiliza um corante de polimetileno para marcar o RNA/DNA de células reticuladas, membrana plaquetária e grânulos. Esta tecnologia permite a contagem simultânea de reticulócitos, eritrócitos e plaquetas fluorescentes. Estudos mostraram que a PLT-O é mais confiável em contagens plaquetárias abaixo de 100x10^9/L, permitindo decisões clínicas mais apropriadas quando relacionadas às transfusões plaquetárias.[5] Além disso, a PLT-O mostra forte correlação com o método imunológico de quantificação de plaquetas, enquanto que a PLT-I demonstra correlação mais fraca. No entanto, o estudo de tendência demonstra alguma discordância entre a PLT-O e o método de referência, apesar da boa correlação.[8]

No Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais, as contagens plaquetárias de rotina são realizadas no equipamento Sysmex XE-5000. A PLT-I é utilizada na grande maioria dos casos, enquanto que a PLT-O é utilizada somente em casos que necessitem de confirmação, como nas plaquetopenias, microcitoses, presença de fragmentos eritrocitários, distribuição anormal de plaquetas em histograma e resultados discrepantes. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi comparar os valores de contagens plaquetárias de indivíduos hospitalizados, não saudáveis, realizadas pelo método de impedância e óptico fluorescente.

MATERIAL E MÉTODOS

Em estudo retrospectivo, foram avaliados dados sequenciais arquivados de contagens plaquetárias de trezentos indivíduos adultos hospitalizados, incluindo casos de anemias microcíticas e hemolíticas, neoplasias hematológicas, entre outras doenças. Todos os casos continham contagens de plaquetas realizadas pelo método de impedância e óptico fluorescente no equipamento Sysmex XE-5000 (Sysmex Corp, Kobe, Japão). Os dados eram provenientes do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Regional dos Campos Gerais, Ponta Grossa, Paraná.

A distribuição das contagens de plaquetas foi avaliada quanto à normalidade pelo teste Kolmogorov-Smirnov Z. Mediana e variação foram usadas para análise descritiva das variáveis contínuas. A mediana das contagens de plaquetas foi comparada entre os métodos utilizando-se o teste Mann-Whitney U. O método Bland-Altman foi utilizado para identificar a diferença média e limites de concordância de 95% entre os métodos de contagem de plaquetas. A regressão Passing-Bablok também foi utilizada para avaliar as diferenças entre as metodologias.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa SPSS (Versão 20.0, SPSS, Chicago, IL) e MedCalc (Versão 17.9.7, MedCalc Software, Mariakerke, Bélgica). Consideraram-se valores significativos quando o p<0,05.

RESULTADOS

Os valores medianos e variações dos parâmetros gerais e das contagens plaquetárias dos hemogramas dos trezentos casos estudados apresentam-se na Tabela 1. A distribuição dos valores das contagens plaquetárias foi não paramétrica (p<0,001).

Tabela 1 - Características gerais numéricas dos hemogramas dos 300 casos estudados

Parâmetros	Mediana (variação)
Leucócitos x10^9/L	7,8 (0,2 - 130,8)
Eritrócitos x10^{11}/L	3,88 (1,37 - 6,48)
Hemoglobina g/dL	10,9 (4,0 - 17,5)
VCM fL	88,4 (48,6 - 118,8)
PLT-I x10^9/L	197 (1 - 1181)
PLT-O x10^9/L	210 (1 - 1171)

Não houve diferença significativa entre os valores de contagens plaquetárias PLT-O e PLT-I (p=0,614). Quando avaliamos os valores de plaquetas entre diferentes grupos em relação às metodologias não houve diferença entre as contagens plaquetárias naqueles com VCM abaixo de 80 fL (p=0,936), VCM abaixo de 70 (p=0,821), plaquetas abaixo de 100x10^9/L (p=0,369) e plaquetas abaixo de 50x10^9/L (p=0,314) (Tabela 2).

Na Figura 1 encontra-se o gráfico de Bland-Altmam referente aos valores plaquetários. A média da diferença entre os valores de contagens PLT-O e PLT-I foi de 9,3x10^9/L. Além disso, o coeficiente de correlação da análise de regressão entre métodos foi de 0,987 (95% IC: 0,983 - 0,989) (p<0,0001).

Nos grupos com plaquetas abaixo de 100x10^9/L e plaquetas abaixo de 50x10^9/L, o coeficiente de correlação foi de 0,962 (95% IC: 0,938 - 0,977) (p<0,0001) e 0,930 (95% IC: 0,842 - 0,969) (p<0,0001), respectivamente.

Tabela 2 - Comparação dos valores medianos das contagens plaquetárias em diferentes grupos

Grupos	Contagens Plaquetárias		p**
	Óptica Mediana x10⁹/L (variação)	Impedância Mediana x10⁹/L (variação)	
Geral (n=300)	210 (1 - 1171)	197 (1 - 1181)	0,614
<100x10⁹/L* (n=74)	60 (1 - 99)	56 (1 - 119)	0,369
<50x10⁹/L* (n=24	16 (1 - 43)	14 (1 - 42)	0,314
VCM <80fL (n=42)	277 (51 - 1171)	300 (27 - 1181)	0,936
VCM <70fL (n=16)	266 (79 - 513)	294 (111 - 531)	0,821

*Corte estipulado nas contagens realizadas pelo método óptico fluorescente.
**Teste Mann-Whitney U.

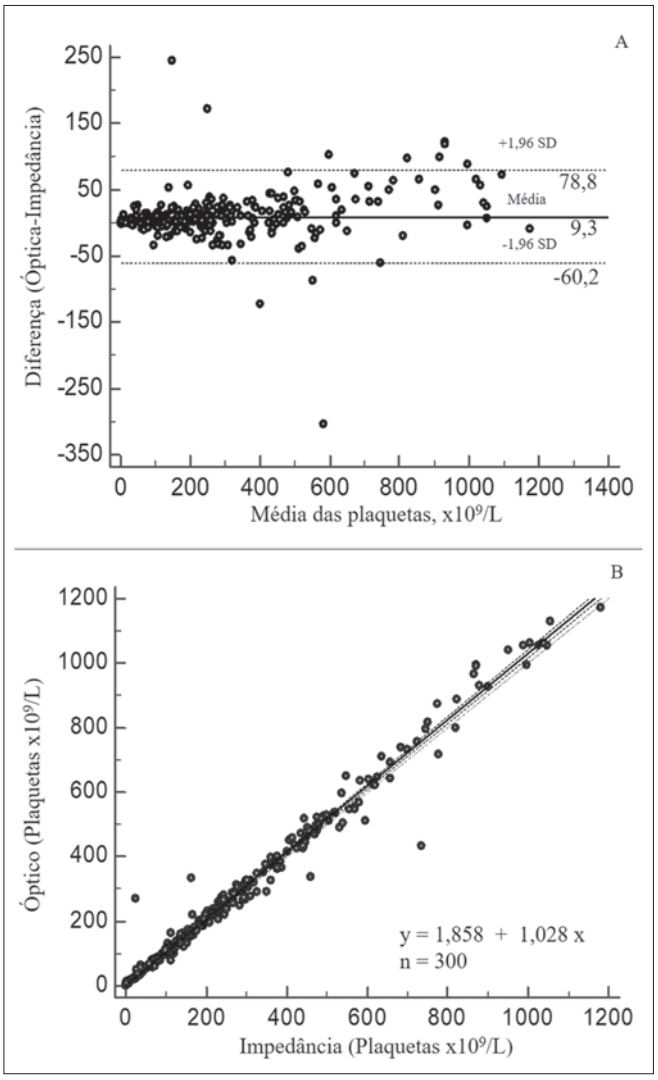


Figura 1. Gráfico de Bland-Altmam referente aos valores plaquetários.

DISCUSSÃO

Os analisadores hematológicos disponibilizam diferentes metodologias para realizar a contagem plaquetária, como a PLT-I, PLT-O, método CD61, e, mais recentemente, plaquetas fluorescentes. Apesar de o número de analisadores hematológicos disponíveis, a metodologia mais utilizada é a PLT-I. Esta metodologia não necessita de reagentes específicos, é rápida e de baixo custo. Além disso, é disponibilizada tanto em analisadores mais simples, com contagem diferencial em três partes, quanto em analisadores de última geração, que disponibilizam mais de 30 parâmetros para avaliação do hemograma. Em nosso estudo, avaliamos a concordância entre os valores de contagens plaquetárias PLT-O e PLT-I em indivíduos hospitalizados.

Nossos resultados demonstraram uma forte correlação entre os valores obtidos por PLT-O e PLT-I. No entanto, os valores plaquetários utilizando PLT-I mostraram um viés positivo em relação aos valores de contagem utilizando PLT-O, estes achados estão de acordo com os dados encontrados em outros estudos.[5] Quando avaliamos somente as contagens plaquetárias abaixo de 100x10⁹/L e abaixo de 50x10⁹/L, a correlação também foi forte. Porém, estudos demonstraram discrepâncias significativas em valores plaquetopênicos obtidos por PLT-I, principalmente quando os valores de contagens encontravam-se abaixo de 50x10⁹/L.[4,9] Provavelmente, essa divergência entre nossos resultados e os da literatura pode ser atribuída à nossa pequena casuística de casos com plaquetopenia.

A metodologia PLT-O não é superior à PLT-I para todas as populações;[9,10] quando comparada com o método de referência, parece superestimar os valores em situações de trombocitopenias acentuadas[4,5] e pode contar erroneamente fragmentos de leucócitos apoptóticos, principalmente na terapia citotóxica.[9] Isto provavelmente ocorre devido à coloração inadequada de fragmentos leucocitários após a apoptose.[11] Além disso, Wada et al.[12] recentemente demonstraram que amostras com hemácias fragmentadas superestimaram expressivamente as contagens plaquetárias realizadas tanto pelo método PLT-O quanto pelo método PLT-I. Os motivos das imprecisões na contagem automatizada de plaquetas foram bem documentados. As contagens superestimadas podem resultar da falha dos analisadores em discriminar os fragmentos de

glóbulos vermelhos e outras partículas não plaquetárias, como imunocomplexos, bactérias, entre outros.[13,14] Por outro lado, os valores subestimados de contagens plaquetárias podem ocorrer quando as plaquetas gigantes não são discriminadas dos glóbulos vermelhos e são excluídas da contagem de plaquetas.[15,16]

Quando avaliamos as contagens plaquetárias em relação ao VCM, não encontramos diferenças significativas no grupo geral com microcitose (VCM abaixo de 80 fL) e o mesmo ocorreu em relação ao grupo de casos com microcitose moderada e acentuada (VCM abaixo de 70 fL). No entanto, recentemente, um estudo demonstrou que o método de impedância superestimou a contagem de plaquetas em amostras com valores de VCM abaixo de 70 fL. Além disso, os mesmos autores demonstraram fraca correlação entre os métodos PLT-I e PLT-O. Esses achados sugerem que o método PLT-O é mais preciso para estimar a contagem de plaquetas em amostras com hemácias microcíticas, especialmente nos casos com microcitose moderada e acentuada.[17]

De uma maneira geral, estudos demonstraram que os analisadores hematológicos apresentam contagens de plaquetas superestimadas, tanto em metodologias ópticas (XE-2100, Advia 120, Cell-dyn 4000) como por impedância (XE-2100, LH 750 e Pentra). Isso impacta justamente no "threshold" das decisões clínicas transfusionais, influenciando prognósticos e subestimando necessidades de transfusões plaquetárias, aumentando o risco de sangramento em pacientes plaquetopênicos.[9,18] Por outro lado, nas situações em que pode ocorrer a contagem subestimada de plaquetas, pacientes que não necessitam de transfusão de plaquetas acabam recebendo e enfrentam um risco aumentado de aloimunização, imunossupressão, doenças infecciosas e doença de enxerto *versus* hospedeiro.[19]

Atualmente existem metodologias disponíveis que emitem resultados de quantificação plaquetária com maior precisão, confiabilidade e menor interferência de contagem, como, por exemplo, a plaqueta fluorescente disponibilizada na linha Sysmex-XN,[20] a qual utiliza um reagente específico para coloração das plaquetas. No entanto, o alto custo dificulta o acesso dos laboratórios de pequeno e médio porte às diferentes tecnologias.

CONCLUSÃO

Os valores de contagens plaquetárias, provenientes de pacientes não saudáveis, realizadas no analisador XE-5000 pelos métodos óptico e impedância mostraram forte correlação e boa concordância. Além disso, a maioria das contagens realizadas por essas metodologias é confiável e precisa, e as situações em que podem ocorrer discrepâncias são consideradas raras na rotina laboratorial ambulatorial e de hospitais não especializados.

Abstract

Objective: *The objective of this study was to compare the results of platelet counts platelet counts in blood samples from hospitalized individuals performed by impedance and fluorescent optical methods.* ***Methods:*** *In a retrospective study, it was evaluated the archived sequential data from platelet counts in blood samples from three hundred hospitalized adult individuals, including cases of microcytic and hemolytic anaemia, hematological malignancies, among other diseases. All cases contained platelet counts performed by the impedance (PLT-I) and optical fluorescent method (PLT-O) on the Sysmex XE-5000.* ***Results:*** *There was no significant difference between platelet counts between PLT-O and PLT-I (p=0.614). When the platelet values among different groups regarding methodologies was evaluated, there was no difference between platelet counts in those with MCV below 80 fL (p=0.936), MCV below 70 fL (p=0.821), platelets below 100x10⁹/L (p=0.369) and platelets below 50x10⁹/L (p=0.314). In addition, the correlation between PLT-I and PLT-O was strong.* ***Conclusion:*** *The values of platelet counts from unhealthy patients performed in the XE-5000 analyzer by impedance and optical methods showed strong correlation and good agreement.*

Keywords

Platelet count; Platelets; Hospitalized patient

REFERÊNCIAS

1. Kaufman RM, Djulbegovic B, Gernsheimer T, Kleinman S, Tinmouth AT, Capocelli KE, et al. Platelet Transfusion: A clinical Guideline From the AABB. Ann Intern Med. 2015;162(3):205-13.
2. Chuzi S, Stein BL. Essential thrombocythemia: a review of the clinical features, diagnostic challenges, and treatment modalities in the era of molecular discovery. Leuk Lymphoma. 2017;58(12): 2786-98.
3. Hong KH, Kim MJ, Lee KW, Park KU, Kim HS, Song J. Platelet count evaluation using three automated haematology analysers compared with the immunoplatelet reference method, and estimation of possible inadequate platelet transfusion. Int Jnl Lab Hem. 2009;31:298-306.
4. Briggs C, Harrison P, Grant D, Staves J, MacHin SJ. New quantitative parameters on a recently introduced automated blood cell counter the XE 2100. Clin Lab Haematol. 2000;22(6):345-50.
5. Briggs C, Harrison P, Machin SJ. Continuing developments with the automated platelet count. Int J Lab Hematol.2007;29:77-91.
6. International Council for Standardization in Haematology Expert Panel on Cytometry and International Society of Laboratory Hematology Task Force on Platelet Counting. Platelet counting by the RBC/platelet ratio method: a reference method. Am J Clin Pathol. 2001;115:460-4.
7. Harrison P, Ault KA, Chapman S, Charie L, Davis B, Fujimoto K, et al. An interlaboratory study of a candidate reference method for platelet counting. Am J Clin Pathol. 2001;115:448-59.
8. Cid J, Nascimento JD, Vicent A, Aguinaco R, Escoda L, Ugarriza A, et al. Evaluation of low platelet counts by optical, impedance, and CD61-immunoplatelet methods: estimation of possible inappropriate platelet transfusion. Transfusion. 2010;50(4):795-800.
9. Segal H, Briggs C, Kunka S, Casbard A, Harrison P, Machin SJ, et al. Accuracy of platelet counting haematology analysers in severe thrombocytopenia and potential impact on platelet transfusion. Br J Haematol. 2005;128:520-25.
10. Sandhaus LM, Osei ES, Agrawal NN, Dillman CA, Myerson HJ. Platelet counting by the Coulter LH 750, Sysmex XE 2100, and Advia 120: a comparative analysis using the RBC/platelet ratio reference method. Am J Clin Pathol. 2002;118:235-41.
11. van der Meer W, MacKenzie MA, Dinnissen JW, de Keijzer MH. Pseudoplatelets: a retrospective study of their incidence and interference with platelet counting. J Clin Pathol. 2003;56(10):772-774.

12. Wada A, Takagi Y, Kono M, Morikawa T. Accuracy of a new platelet count system (PLT-F) depends on the staining property of its reagents. Plos one. 2015;10(10): e0141311.
13. Ault KA. Platelet counting: is there room for improvement? Lab Haematol. 1996;2:139-43.
14. Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review, part I: platelets. Int J Lab Hematol . 2007;29:4-20.
15. Kunicka JE, Fischer G, Murphy J, Zelmanovic D. Improved platelet counting using two dimensional laser light scatter. Am J Clin Pathol. 2000;114:283-9.
16. Lima KG, Werlang MC, Munhoz TP. Avaliação do desempenho do equipamento de hematologia Sysmex XE2100D em um laboratório municipal. RBAC. 2015;47(4):133-40.
17. Boulassel MR, Al-Farsi R, Al-Hashmi S, Al-Riyami H, Khan H, Al-Kindi S. Accuracy of Platelet Counting by Optical and Impedance Methods in Patients with Thrombocytopaenia and Microcytosis. Sultan Qaboos Univ Med J. 2015;15(4):e463-8.
18. De La Salle BJ, Mctaggart PN, Briggs C, Harrison P, Doré CJ, Longair I, et al. The accuracy of platelet counting in thrombocytopenic blood samples distributed by the UK National External Quality Assessment Scheme for General Haematology. Am J Clin Pathol. 2012;137: 65-74.
19. Katus MC, Szczepiorkowski ZM, Dumont LJ, Dunbar NM. Safety of platelet transfusion: past, present and future. Vox Sang. 2014;107 (2):103-13
20. Tanaka Y, Tanaka Y, Gondo K, Maruki Y, Kondo T, Asai S, et al. Performance evaluation of platelet counting by novel fluorescent dye staining in the XN-series automated hematology analyzers. J Clin Lab Anal. 2014;28:341-8.

Correspondência
Thamires Aparecida Dzirba
Avenida General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bloco M - Sala 92
Ponta Grossa-PR, Brasil

Avaliação do perfil de infiltração e relevância do uso de estabilizantes celulares nas amostras de líquido cefalorraquidiano recebidas no Laboratório de Marcadores Celulares do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina

Infiltration profile evaluation and relevance of the use of cellular stabilizers in cerebrospinal fluid samples received by Cell Labelling Laboratory in Hematology and Hemotherapy Center of Santa Catarina

Nicoli De Bona Heck[1]
Mayara Pirolli Coelho[1]
Gisele Cristina Dametto[1]
Maria Daniela Holthausen Périco Colombo[2]
Renata Silva Kalfeltz[3]

Resumo
Objetivo: O presente estudo pretende analisar o perfil e as condições das amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) recebidas no setor de Marcadores Celulares do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina (HEMOSC). **Métodos:** Os dados foram obtidos retrospectivamente através do sistema HemoSis e dos planos de trabalho contidos no laboratório num intervalo de 12 meses. **Resultados:** Das 117 amostras avaliadas, observa-se que 54% das provenientes do interior do estado de Santa Catarina são pouco viáveis, enquanto que apenas 9% das amostras da grande Florianópolis apresentaram este problema. No total de amostras avaliadas, quatro laudos foram inconclusivos devido à baixa viabilidade. Em relação ao perfil das amostras, somam-se LCR referentes a 65 pacientes sem predomínio de sexo, majoritariamente em idade adulta e se sobressaem as investigações de Linfoma Não-Hodgkin B e leucemias agudas. Dos pacientes, nove revelaram amostras infiltradas. Entre as neoplasias que acometem o sistema nervoso central, há um predomínio de infiltração por doenças linfoides nas amostras recebidas pelo laboratório. Além disso, a baixa viabilidade celular em algumas amostras pode estar associada a resultados inconclusivos ou de baixa confiabilidade. **Conclusão:** É preciso adequar as coletas do LCR e inserir o uso dos estabilizantes na rotina para evitar resultados inconclusivos e possíveis recoletas de amostra.

Palavras-chave
Leucemia; Linfoma; Citometria de Fluxo; Líquido cefalorraquidiano

INTRODUÇÃO

A otimização do uso da citometria no diagnóstico e acompanhamento de doenças que acometem o Sistema Nervoso Central (SNC) tem ganhado destaque na prática clínica.[1,2] Por tratar-se de uma abordagem diagnóstica relativamente nova, existem diversas lacunas de conhecimento a serem preenchidas, inclusive em termos de medidas educativas direcionadas aos profissionais envolvidos no processo de acompanhamento do paciente, coleta e envio de amostra, processamento do material e análise dos dados obtidos.

O líquido cefalorraquidiano (LCR) de um indivíduo sadio pode conter até 5 leucócitos/mm^3, distribuídos entre uma porcentagem média de 60% de linfócitos e 20% de monócitos. Em menores proporções, granulócitos e células dendríticas também serão vistos. O encontro de outro tipo celular é indicativo de alguma situação atípica.[3,4] Em pacientes com suspeita de metástase de doenças hematológicas para o SNC, o estudo citológico do LCR é muito importante e frequentemente permite a detecção de linfocitose.[5]

O rápido efeito citotóxico do LCR nos leucócitos devido ao aumento do pH extravivo causado pela difusão de CO2

[1]*Bioquímica. Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina – HEMOSC - Florianópolis-SC, Brasil.*
[2]*Médica. Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina – HEMOSC - Florianópolis-SC, Brasil.*
[3]*Bioquímica, Mestre. Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina – HEMOSC - Florianópolis-SC, Brasil.*

Instituição: UCentro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina – HEMOSC - Florianópolis-SC, Brasil.

Recebido em 14/12/2017
Artigo aprovado em 23/08/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800656

para fora da amostra e devido à hipotonicidade (baixa pressão oncótica) faz com que as células inchem, lisem ou tornem-se irreconhecíveis.[6] Por isso, para exames laboratoriais feitos em LCR sem nenhum tipo de estabilizante celular, as amostras devem ser processadas até uma hora depois da punção para minimizar a deterioração sofrida pelas células.[1,7]

O encontro de células neoplásicas é padrão ouro no diagnóstico de carcinomatose meníngea, contudo, devido à pequena quantidade de células no LCR, a sensibilidade da citologia oncótica é baixa.[8,9] Tendo em vista que a maioria das amostras de LCR são paucicelulares e perdem viabilidade celular muito rapidamente,[1] apesar da alta especificidade da citologia convencional, esta técnica está associada a uma sensibilidade limitada com até 20% a 60% de resultados falso-negativos. Contudo, estudos recentes mostram claramente que a citometria de fluxo pode ser mais sensível do que a citologia convencional para a detecção de células neoplásicas no LCR.[2,10,11]

A citometria de fluxo permite que sejam investigados vários constituintes celulares simultaneamente, e essa característica tem tornado esta a técnica de escolha para análises multiparamétricas de populações celulares.[12]

Neste contexto, o presente estudo pretende analisar o perfil e as condições das amostras de LCR recebidas no setor de Marcadores Celulares do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina (HEMOSC) em um intervalo de 12 meses no período de 1º de novembro de 2015 a 1º de novembro de 2016; verificar a distribuição de patologias onco-hematológicas que afetam o SNC em amostras de LCR recebidas no laboratório de Marcadores Celulares; identificar possíveis problemas técnicos e propor melhorias na fase pré-analítica.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo descritivo, observacional e retrospectivo. Os dados foram obtidos pelo pesquisador, mediante autorização e orientação da responsável pelo setor de Marcadores Celulares, através do sistema HemoSis – Sistema de Gerenciamento de Hemocentro – e dos planos de trabalhos contidos no laboratório de Marcadores Celulares do HEMOSC. Estes são referentes às amostras de LCR recebidas pelo laboratório no intervalo de 12 meses no período de 1º de novembro de 2015 a 1º de novembro de 2016. Somaram-se 117 amostras e nenhum critério de exclusão foi utilizado. Os dados foram analisados com estatística descritiva e expressos em porcentagem.

RESULTADOS

Foi possível determinar a viabilidade de 96,6% das 117 amostras avaliadas. Destas, 17% (n=19) apresentaram baixa viabilidade celular (menos que 75% de células viáveis). Quando cruzados os dados de procedência e viabilidade celular, observa-se que a maioria (54%) das amostras provenientes do interior do estado de Santa Catarina, e que levam ao menos 24 horas para chegar ao setor de análise, são pouco viáveis, enquanto que apenas 9% das amostras da grande Florianópolis apresentaram este problema. No total de amostras avaliadas, quatro laudos foram inconclusivos devido à baixa viabilidade celular, todas recebidas após um longo tempo da coleta e provenientes do interior do estado. Entre os pacientes com amostras pouco viáveis, cinco tinham diagnóstico prévio de linfoma de Burkitt e não se detectou infiltração neoplásica no LCR em nenhum deles. Um dos pacientes teve nova amostra enviada vinte dias depois, com boa viabilidade celular e infiltração detectada de 98,8%. No que diz respeito ao perfil das amostras, somam-se LCR referentes a 65 pacientes sem predomínio de sexo, majoritariamente em idade adulta (18 a 59 anos) e se sobressaem as investigações de Linfoma Não-Hodgkin B (LNH-B) – 43,1% das suspeitas, e de leucemias agudas – 35,4% das suspeitas (Tabela 1).

Destes pacientes, nove revelaram, em algum momento, amostras infiltradas: quatro por LNH-B; três por leucemias linfoides agudas; dois por leucemias mieloides (Tabela 2).

Tabela 1. Distribuição dos pacientes de acordo com o sexo, faixa etária e indicação clínica.

Indicação clínica	Número de pacientes	% de pacientes	Pacientes com infiltração	% de pacientes com infiltração
Linfomas Não-Hodgkin B	28	43,1	4	6,2
Linfomas sem indicação especificada	6	9,2	0	0
Linfomas T	4	6,2	0	0
Leucemias agudas	23	35,4	5	7,7
Outras	4	6,2	0	0
Faixa etária (anos)				
0 a 12	3	4,6	1	1,5
13 a 18	2	3,1	0	0,0
19 a 59	43	66,2	7	10,8
60 ou mais	17	26,2	1	1,5
Sexo				
Feminino	32	49,2	6	9,2
Masculino	33	50,8	3	4,6

Tabela 2

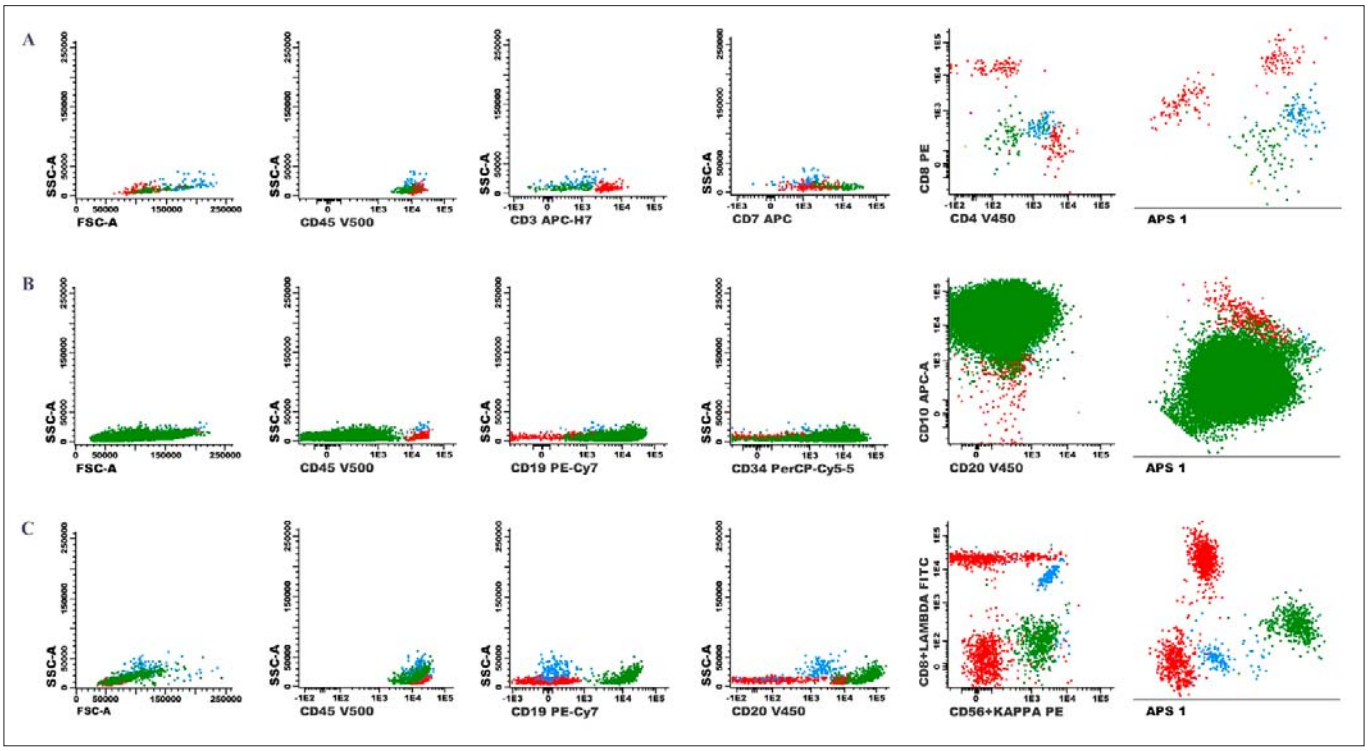
Paciente	Número de amostras recebidas	Número de amostras infiltradas	Diagnóstico prévio	Fenótipo das células clonais	Infiltração (%)
1	7	5	LNH-B (Burkitt x LDGCB)*	CD45+ CD19+ CD20+ CD38+ CD10+ CD81+ CD95-/+	0,5
				CD45+ CD19+ CD20+/++ CD38++ CD10++ CD81++ CD95-/+	71,8
				CD45+ CD19+ CD20+/++ CD38++ CD10++ CD81++ CD95-/+	71,8
				CD45+ CD19+ CD20+ CD38+ CD10+ CD81++ CD95-/+	3,0
				CD45+ CD19+ CD20+ CD38+ CD10++ CD81++ CD95+fraco	3,6
2	6	4	LNH-B (Burkitt)*	CD45+ CD19+ CD20+ CD38+ CD10+ CD81+ Kappa+	27
				CD45+ CD19+ CD20+ CD38+ CD10+ CD81+ Kappa+	98
				CD45+ CD19+ CD20+ CD38+ CD10+ CD81+ Kappa+	50
				CD45+ CD19+ CD20+ CD38+ CD10+ CD81+ Kappa+	50
3	2	1	LNH-B (Burkitt)	CD45+ CD19+ CD20++ CD38++ CD10+ CD81+ CD95+ Kappa+	98,8
4	2	2	LLA-B*	CD45-/+ CD19+ CD34+ CD38-/+fraco CD10+ CD81+	99,0
5	4	4	LMA*	CD45+fraco CD34+ CD117+ HLA-DR+	19,0
				CD45+fraco CD34+ CD117+ HLA-DR+fraco	6
				CD45+fraco CD34+ CD117+ HLA-DR+fraco CD13-/+fraco CD7-/+fraco	3
				CD45+fraco CD34+ CD117+ HLA-DR-/+ CD7-/+ CD56-/+	7,2
6	1	1	LMMA*	CD45-/+fraco CD19+ CD34-/+ CD38-/+fraco CD10+ CD20-/+ CD66c+	7,8
				CD45+fraco CD19+ CD34-/+ CD38(-) CD10++ CD20+ CD66c-/+fraco	81
				CD45+fraco CD19+ CD34-/+ CD38(-) CD10++ CD20+ CD66c-/+	10
8	1	1	LNH-B (Burkitt)	CD45+ CD19+ CD20++ CD38++ CD10++ CD95+ Kappa+	28,3
9	5	1	LLA-T inicial*	CD45+fraco CD3+fraco CD7++ CD2-/+ CD44+ CD4(-) CD8(-) CD5(-)	22

LNH-B (Burkitt x LDGCB)- Linfoma Não-Hodgkin B com classificação entre Burkitt e Grandes Células B; LNH-B (Burkitt) - Linfoma Não-Hodgkin B com classificação tipo Burkitt; LLA-B - Leucemia Linfoide Aguda B; LMA - Leucemia Mieloide Aguda; LMMA - Leucemia Mielomonocítica Aguda; LLA-T inicial - Leucemia Linfoide T inicial

DISCUSSÃO

A imunofenotipagem é extremamente útil, pois permite descrever o imunofenótipo das células detectadas e determinar se há alguma anomalia ou de onde estas são provenientes. Apresentamos amostras infiltradas principalmente por LNH-B, o que, provavelmente, tem relação com a prevalência de pacientes em idade adulta. Especulamos que o delineamento seria diferente se atendêssemos a um número maior de crianças. É conhecido que o SNC é mais comumente infiltrado por linfomas e leucemias linfoides.[13,14] Neste contexto, a citometria de fluxo tem um papel muito relevante, pois permite distinguir entre células linfoides residentes do LCR e células clonais que nem sempre são facilmente diferidas através da avaliação morfológica devido às frequentes atipias linfocitárias. Em todas as amostras em que foram detectados blastos linfoides B, verificamos a expressão de CD34 e/ou CD10. Os linfócitos B eventualmente detectados no LCR não devem expressar CD10 ou CD34, os que apresentam estes antígenos na membrana celular são sempre patogênicos.[15] De modo similar, as síndromes linfoproliferativas crônicas podem ser confirmadas por meio da imunofenotipagem com segurança. Das quatro amostras infiltradas por doenças linfoproliferativas B, três tiveram monoclonalidade identificada através da restrição de cadeia leve de imunoglobulina. A detecção de restrição de cadeia leve de imunoglobulina é suficiente para determinar a clonalidade dos linfócitos avaliados, e o referido parâmetro serve tanto para o diagnóstico quanto para o seguimento de pacientes com infiltração.[16] Nos LNH-B de baixo grau, a infiltração do SNC atinge menos de 5% dos pacientes,[17] porém, quando o LNH-B está associado a alguns fatores de risco, a taxa de infiltração já no diagnóstico aumenta consideravelmente.[13,18-20] (Figura 1).

A citometria permite ainda a distinção entre células dendríticas plasmocitoides blásticas ou residentes no LCR. Pudemos evidenciar, com clareza, a presença de células dendríticas em duas amostras de uma mesma paciente devido a infiltrado inflamatório. Apesar de ser uma leucemia rara, quando afeta o SNC tem relevância para o prognóstico do paciente. Ainda que a investigação do SNC não faça parte do protocolo clínico padrão para leucemias de células dendríticas plasmocitoides, 60% dos pacientes com a doença têm o LCR infiltrado ao diagnóstico e sua sobrevida é



Gráficos de pontos demonstrativos de LCR infiltrados avaliados por citometria de fluxo de 8 cores. Os debris celulares foram excluídos através da avaliação de tamanho celular e expressão de CD45. Em todos os gráficos, as células residentes estão identificadas da seguinte maneira: linfócitos T - pontos vermelhos; monócitos - pontos azuis. As células clonais estão identificadas com pontos verdes. Amostra de LCR infiltrada por blastos de Leucemia Linfoide Aguda T (A), por blastos de Leucemia Linfoide Aguda B (B), por células de Linfoma Não-Hodgkin B (C).

aumentada significativamente quando recebem tratamento profilático para o SNC.[21] Além disso, de acordo com a experiência do laboratório, alguns tipos celulares são mais susceptíveis à morte celular, incluindo a célula de Burkitt. Na casuística estudada, nos casos em que a viabilidade estava abaixo do ideal, as amostras para investigar a presença desta célula apresentaram resultados inconclusivos ou negativos. O linfoma de Burkitt é um linfoma incomum, porém altamente agressivo, com uma das mais altas taxas de divisão celular conhecidas dentre os tumores humanos.[22] Esta característica exige atenção redobrada às amostras com suspeita de infiltração por linfoma de Burkitt e agilidade na manipulação, pois as células da doença são rapidamente afetadas quando submetidas a situações adversas. Esta demanda da prática clínica e o impacto da fase pré-analítica, principalmente do tempo pós-coleta do material, nos exames realizados em LCR,[23] têm levado ao uso de novas práticas que aprimoram o desempenho das análises feitas por citometria de fluxo. O uso de estabilizantes celulares imediatamente após a coleta é uma solução com claras evidências de eficácia na manutenção da integridade da amostra. Ainda que o TransfixTM tenha se mostrado mais eficiente,[24] o meio de cultura celular RPMI 1640 também é uma excelente opção para manutenção da viabilidade celular. O custo estimado para o uso dos estabilizantes varia de $0.26 a $12.00 por teste dependendo do tipo do produto escolhido para a função,[25] o que viabiliza a implantação independente da disponibilidade financeira do local de coleta ou do centro de análise.

CONCLUSÃO

Entre as neoplasias que acometem o SNC, há um predomínio de infiltração por doenças linfoides nas amostras recebidas pelo laboratório. Além disso, a baixa viabilidade celular em algumas amostras pode estar associada à obtenção de resultados inconclusivos ou de baixa confiabilidade. Isto posto, é preciso adequar as coletas do LCR e inserir o uso dos estabilizantes imediatamente após o procedimento para evitar resultados inconclusivos e minimizar a possibilidade de novas coletas de um material tão nobre.

Abstract

Objective: *This study aims to evaluate the aspects and profile of CSF samples received by Cell Labelling Laboratory in Hematology and Hemotherapy Center of Santa Catarina.* ***Methods:*** *The data were obtained retrospectively through the HemoSis system and the work plans contained in the laboratory within a 12 months interval.* ***Results:*** *Of 117 samples evaluated, 54% of those from the country side of Santa Catarina estate were poorly viable for analysis, while only 9% of samples from Florianopolis and surrounding area showed the same problem. Of these samples, four reports were inconclusive. Regarding CSF samples profile, the samples were from 65 patients with no predominance of sex, mainly*

in adult life and for the diagnosis of B cell Non-Hodgkin's Lymphoma and acute leukemia. Of all patients, nine showed infiltrate samples at some point. Among the neoplasias that affect Central Nervous System, the laboratory received manly samples showing infiltration from lymphoid diseases. In addition, the low cell viability in some samples might be associated to inconclusive and low reliable reports. ***Conclusion:*** *It is necessary to adjust the CSF harvesting by addition of cellular stabilizers to avoid inconclusive and unreliable reports, and the need of a new harvesting.*

Keywords
Leukemia; Lymphoma; Flow cytometry; Cerebrospinal fluid

REFERÊNCIAS

1. Kraan J, Gratama JW, Haioun C, Orfao A, Plonquet A, Porwit A, et al. Flow Cytometric Immunophenotyping of Cerebrospinal Fluid. Curr Protoc Cytom. 2008; chapter 6: unit 6 25.
2. Subira D, Castañón S, Aceituno E, Hernández J, Jiménez-Garófano C, MD, Jiménez A, et al. Flow cytometric analysis of cerebrospinal fluid samples and its usefulness in routine clinical practice. Am J Clin Pathol. 2002;117:952-8.
3. de Graaf MT, de Jongste AH, Kraan J, Boonstra JG, Sillevis Smitt PA, Gratama JW. Flow cytometric characterization of cerebrospinal fluid cells. Cytometry Part B. 2011;80B:271-81.
4. de Graaf MT, Smitt PA, Luitwieler RL, van Velzen C, van den Broek PD, Kraan J, et al. Central memory CD4+ T cells dominate the normal cerebrospinal fluid. Cytometry Part B. 2011;80B:43-50.
5. Bromberg JE, Breems DA, Kraan J, Bikker G, van der Holt B, Smitt PS, et al. CSF flow cytometry greatly improves diagnostic accuracy in CNS hematologic malignancies. Neurology. 2007;68:1674-9.
6. Torzewski M, Lackner KJ, Bohl J, Sommer C. Integrated cytology of cerebrospinal fluid. Berlin: Springer; 2008.
7. de Graaf MT, van den Broek PD, Kraan J, Luitwieler RL, van den Bent MJ, Boonstra JG, et al. Addition of serum-containing medium to cerebrospinal fluid preventes cellular loss over time. J Neurol. 2011;258:1507-12.
8. Dass J, Dayama A, Mishra PC, Mahapatra M, Seth T, Tyagi S, et al. Higher rate os central nervous system involvement by flow cytometry than morphology in acute lymphoblastic leukemia. Int J Lab Hem. 2017;00:1-6;
9. Levinsen M, Marquat HV, Groth-Pedersen L, Abrahamsson J, Albertsen BK, Andersen MK, et al. Leukemic blasts are present at low levels in spinal fluid in one-third of childhood acute lymphoblastic leukemia cases. Pediatr Blood Cancer. 2016;00:1-8.
10. Kovach AE, DeLelys ME, Kelliher AS, Dillon LJ, Hasserjian RP, Ferry JÁ, et al. Diagnostic utility of cerebrospinal fluid flow cytometry in patients with and without prior hematologic malignancy. Am J Hematol. 2014;89:978-984.
11. Ranta S, Nilson F, Harila-Saari A, Saft L, Tani E, Soderhall S, et al. Detection of central nervous system involvment in childhood acute lymphoblastic leukemia by cytomorphology and flow cytometry of the cerebrospinal fluid. Pediatr Blood Cancer. 2015;62:951-6.
12. Sales MM, Vasconcelos DDM. Citometria de fluxo: Aplicações no laboratório clínico e de pesquisa. Seção I, Capítulo 1 - Citometria de fluxo: princípios metodológicos de funcionamento. São Paulo: Editora Atheneu; 2013.
13. Bierman P, Giglio P. Diagnosis and treatment of central nervous system involvement in non-Hodgkin's lymphoma. Hematol Oncol Clin North Am. 2005;19:597-609.
14. Evans AE, Gilbert ES, Zandstra R. The increasing incidence of central nervous system leukemia in children. Cancer. 1970;26: 404-9.
15. Subira D, Castañón S, Roman A, Aceituno E, Jiménez-Garófano C, Jiménez A, et al. Flow cytometry and the study of central nervous disease in patients with acute leukaemia. Br J Haematol. 2001; 112:381-4.
16. Hegde U, Filie A, Little RF, Janik JE, Grant N, SteinbergSM, et al. High incidence of occult leptomeningeal disease detected by flow cytometry in newly diagnosed aggressive B-cell lymphomasat risk of central nervous system involvement: The role of flow cytometry versus cytology. Blood. 2005;105:496-502.
17. Hollender A, Kvaloy S, Nome O, Skovlund E, Lote K, Holte H. Central nervous system involvement following diagnosis of non-Hodgkin's lymphoma. Ann Oncol. 2002;13:1099-107.
18. Bishop PC, Wilson WH, Pearson D, Janik J, Jaffe ES, Elwood PC. CNS involvement in primary mediastinal large B-cell lymphoma. J Clin Oncol. 1999;17:2479-85.
19. Feugier P, Virion JM, Tilly H, Haioun C, Marit G, Macro M, et al. Incidence and risk factors for central nervous system occurrence in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma: Influence of rituximab. Ann Oncol. 2004;15:129-33.
20. Ersbøll J, Schultz HB, Thomsen BL, Keiding N, Nissen NI. Meningeal involvement in non-Hodgkin's lymphoma: symptoms, incidence, risk factors and treatment. Scand J Haematol. 1985;35:487-96.
21. Martin-Martin L, Lopez A, Vidriales B, Caballero MD, Rodrigues AS, Ferreira SI, et al.Classification and clinical behavior of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasms according to their maturation-associated immunophenotypic profile. Oncotarget.2015; 6(22):19204-16.
22. Hecht JL, Aster JC. Molecular biology of burkitt's lymphoma. J Clin Oncol, Boston. 2000;18(21):3707-21.
23. Dimas L, Puccioni-Sohler M. Exame do líquido cefalorraquidiano: influência da temperatura, tempo e preparo da amostra na estabilidade analítica. J Bras Patol Med Lab. 2008;44(2):97-106.
24. de Jongste AH, Kraan J, van den Broek PD, Brooimans RA, Bromberg JE, van Montfort KA, et al.Use of TransFix™ cerebrospinal fluid storage tubes prevents cellular loss and enhances flow cytometric detection of malignant hematological cells after 18 hours of storage.. Cytometry B Clin Cytom. 2014;86(4):272-9.
25. Greig B, Stetler-Stevenson M, Lea J. Stabilization Media Increases Recovery in Paucicellular Cerebrospinal Fluid Specimens Submitted for Flow Cytometry Testing. Cytometry Part B. 2014;86B:135-8.

Correspondência
Renata Silva Kalfeltz
Avenida Professor Othon Gama D'eça, 756 - Centro
88015-240 – Florianópolis - SC, Brasil

Prevalência de enteroparasitas em indivíduos atendidos no Laboratório Municipal de Buriti dos Lopes, Piauí, Brasil

Prevalence of enteroparasites in individuals attended at the Buriti dos Lopes Municipal Laboratory, Piauí, Brazil

Aline Cristina de Paiva Sousa[1]
Loredana Nilkenes Gomes da Costa[2]
Janaina Maria de Sousa Vieira[1]

Resumo
Objetivo: O presente estudo teve como objetivo analisar a prevalência de enteroparasitas em populares atendidos no laboratório municipal de Buriti dos Lopes-PI, durante os meses de fevereiro a outubro de 2017. **Métodos:** Trata-se de um estudo quantitativo, descritivo e retrospectivo, em que foram utilizados dados coletados dos prontuários do laboratório em questão. **Resultados:** Dentre os prontuários analisados, 41% dos casos manifestaram-se positivos; houve prevalência da presença dos parasitas no sexo feminino (61%); os casos que apresentaram monoparasitismo obtiveram maior prevalência (76%). Em relação ao poliparasitismo, a maior associação encontrada entre os parasitas foi de *Entamoeba coli* e *Endolimax nana* (55,7%). O parasita mais detectado, de forma geral, foi *Endolimax nana*; a faixa etária mais parasitada foi entre 0 a 10 anos (32%). **Conclusão:** As condições de saneamento básico e higiene associados ao tratamento são fatores indispensáveis para reduzir a frequência desses parasitas. Apesar de apresentarem melhorias nos índices, esses parasitas continuam sendo um problema frequente para a população.

Palavras-chave
Epidemiologia; Helmintos; Enteroparasitoses

INTRODUÇÃO

As enteroparasitoses são patologias promovidas por parasitas que habitam o interior do sistema gastrointestinal, retirando nutrientes essenciais para sobreviver.[1] Grande parte da população é acometida por doenças parasitárias.

A partir dos registros da Organização Mundial da Saúde, 3,5 bilhões de pessoas foram apontadas com infecção parasitária.[2] Stevens e Lowe[3] afirmam que as doenças associadas com infecções por protozoários e helmintos são comuns em países tropicais e em áreas de subdesenvolvimento, onde os padrões sanitários são deficitários.

As infecções determinadas pela ingestão de água contaminada com formas parasitárias são facilitadas por fatores relacionados a péssimas condições sanitárias de higiene associados ao estado de desnutrição e também ao ambiente em que estão inseridas, como creches, escolas e outros.[4]

O sintoma observado comumente na infecção parasitária intestinal é a diarreia, que pode ser aquosa, sanguinolenta e/ou purulenta.[5] A intervenção deve partir de iniciativas sanitárias que priorizem a prevenção e controle das enteroparasitoses. Elas têm sido constituídas, periodicamente, com o intuito de diminuir a alta prevalência desse tipo de doença, essencialmente no Nordeste e no Norte e em regiões de difícil acesso, como as comunidades indígenas.[6]

Portanto, ações sanitárias e educativas, associadas ao tratamento, são necessárias para um controle efetivo dessas enfermidades.[7]

O objetivo do presente estudo foi analisar a prevalência de enteroparasitas em populares atendidos no laboratório municipal de Buriti dos Lopes-PI entre o período de fevereiro a outubro de 2017, demonstrando os parasitas mais frequentes na população, agrupados por sexo e faixa etária, com intuito de verificar a quantidade de pacientes infectados com enteroparasitas.

[1]*Acadêmica de Biomedicina/ Universidade Federal do Piauí – Teresina-PI, Brasil.*
[2]*Docente de Biomedicina/ Universidade Federal do Piauí – Teresina-PI, Brasil.*

Instituição: Universidade Federal do Piauí – Teresina-PI, Brasil.

Conflito de interesses; Não há conflito de interesses

Recebido em 24/12/2017
Artigo aprovado em 24/04/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800660

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho trata-se de um estudo quantitativo, descritivo e retrospectivo no qual foram utilizados dados obtidos de populares atendidos no laboratório público de Buriti dos Lopes-PI. O laboratório é de pequeno porte, e, além do exame parasitológico de fezes, realiza sumário de urina e hemograma completo. Os usuários dos serviços desse laboratório são pessoas tanto da zona urbana quanto da zona rural desse município.

Buriti dos Lopes é um município localizado na microrregião do Litoral Piauiense, apresenta clima quente e tropical com temperatura mínima de 27º C e máxima de 34º C. Possui população estimada de 19.464 pessoas, sendo que 31,04% apresentam esgotamento sanitário adequado; a maioria da população sobrevive de atividades como agricultura familiar e pesca.[8]

Os exames foram realizados no período de fevereiro a outubro de 2017, utilizando a técnica de Hoffman, Pons e Janer ou Lutz (sedimentação espontânea).[9]

No total foram realizados 511 exames de indivíduos de diferentes gêneros e faixa etária. Após a análise parasitológica foi realizada tabulação dos dados obtidos utilizando-se o editor de planilhas Excel R 2010.

Os materiais fecais eram coletados pelos populares e levados ao laboratório, no qual realizava-se a técnica de sedimentação espontânea de forma imediata.

RESULTADOS

Foram avaliados 511 exames coproparasitológicos de indivíduos diferentes, dos quais 41% (n=209) foram positivos e 59% (n=302) foram negativos, para pelo menos um enteroparasita.

Ao realizar o estudo da frequência de enteroparasitas positivos, separados por gênero, observou-se que no gênero masculino ocorreu uma frequência de 39% (n=82) dos resultados positivos, e os dados positivos observados no gênero feminino foram equivalentes a 61% (n=127) (Tabela 1).

Tabela 1 - Enteroparasitas agrupados por gênero

Gênero	N *	%
Masculino	82	39%
Feminino	127	61%
Total	209	100%

Com a análise dos resultados obtidos, percebeu-se que os pacientes apresentavam, algumas vezes, mais de um parasita em sua amostra (poliparasitismo) sendo este 24% (n=51); outros apresentavam apenas um parasita (monoparasitismo) sendo 76% (n=158).

A associação entre os parasitas no mesmo paciente era de duas até três espécies diferentes. Agrupando os casos por maior frequência, tem-se que *Entamoeba coli* e *Endolimax nana* foram comumente encontrados em 29 pacientes, seguido de *Endolimax nana* e *Giardia* sp. e também *Entamoeba coli* e *Endolimax nana* e *Ascaris Lumbricoides* (Tabela 2).

Tabela 2 - Quantidade de populares com poliparasitismo

Associação de enteroparasitas	N *	%
Entamoeba coli + *Endolimax nana*	29	55,7
Endolimax nana + *Giardia* sp.	5	9,6
Entamoeba coli + *Giardia* sp.	4	7,6
Entamoeba coli + *Endolimax nana* + *Ascaris lumbricoides*	4	7,6
Entamoeba coli + *Ascaris lumbricoides*	3	5,7
Giardia sp. + *Ascaris lumbricoides*	2	3,8
Entamoeba coli + *Giardia* sp.+ *Iodamoeba butschlii*	1	1,9
Entamoeba coli + *Iodamoeba bustchlii* + *Ascaris lumbricoides*	1	1,9
Entamoeba coli + *Endolimax nana* + *Iodamoeba bustchili*	1	1,9
Endolimax nana + *Hymenolepis nana*	1	1,9
Giardia sp. + *Iodamoeba bustchlii*	1	1,9

A Figura 1 representa as espécies de parasitas encontradas, sendo o *Endolimax nana* (n=76) o mais frequente entre o grupo dos protozoários. Já no grupo dos helmintos, *Ascaris lumbricoides* (n=4) foi observado como sendo o mais prevalente. Como mostra a Figura 1, os monoparasitas encontrados também estão presentes em poliparasitismo.

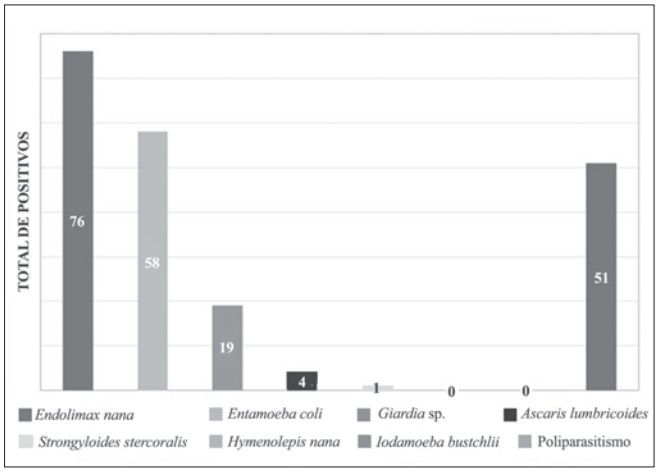


Figura 1. Índice de parasitas encontrados. Dentre os parasitos mais encontrados estão Endolimax nana e Entamoeba coli, *isolados ou associados entre si.*

A Tabela 3 apresenta os parasitas encontrados distribuídos por faixa etária. A idade dos pacientes do laboratório é de 0 a 90 anos. Nessas condições verificou-se que os pacientes mais parasitados são da faixa etária entre 0 a 10 anos, com um percentual de 32% do total de positivos presentes. Ademais, esse grupo é geralmente acometido pelo parasita *E. coli* (n=28).

Em contrapartida, os pacientes menos acometidos nesse estudo foram os pertencentes à faixa etária entre 71 a 80 e 81 a 90. As espécies mais frequentes nessa população são, respectivamente, *A. lumbricoides* (n=2) e *Endolimax nana* (n=1) (Tabela 3).

Tabela 3 - Faixa etária mais acometida e espécies mais frequentes por faixa etária

Faixa etária	N *	%	Espécie mais frequente	X *
0 a 10	68	32,00%	*Entamoeba coli*	28
11 a 20	45	22%	*Endolimax nana*	20
21 a 30	20	10,00%	*Entamoeba coli*	11
31 a 40	19	9%	*Endolimax nana*	18
41 a 50	26	12,00%	*Endolimax nana*	10
51 a 60	14	7,00%	*Entamoeba coli*	8
61 a 70	9	4,00%	*Endolimax nana*	8
71 a 80	4	2,00%	*Ascaris lumbricoides*	2
81 a 90	4	2,00%	*Endolimax nana*	1
Total	209	100,00%		

DISCUSSÃO

A existência de parasitoses intestinais em seres humanos foi identificada pela primeira vez em 1681, quando o pesquisador Antonie Leewenhoek, ao analisar suas próprias fezes com microscopia óptica, relatou ter encontrado "animalículos".[10] Desde então, as enteroparasitoses são consideradas um dos principais problemas de saúde pública, onde no Brasil se apresentam em várias regiões de forma endêmica, apresentando relação com algumas variáveis, como condições precárias socioeconômicas, consumo de água contaminada, além do estado nutricional do hospedeiro. Por não ser doença de notificação obrigatória, existe a possibilidade de que essas enteroparasitoses sejam subnotificadas.[11]

Por ser um país em desenvolvimento e ter clima tropical e subtropical, o Brasil oferece boas condições para os parasitas sobreviverem tendo em vista temperaturas mais elevadas e tempo úmido, constituindo ambiente favorável para a disseminação desses enteroparasitas.[12]

A instrução acerca da epidemiologia de enteroparasitoses é o expoente principal no desenvolvimento de medidas para melhorar o saneamento básico e a qualidade de vida da população de qualquer região mesmo havendo diferenças socioeconômicas grandes, entre outras vertentes. Para combater efetivamente esses parasitas, é necessário que se conheça a distribuição e a espécie mais prevalente na região além da identificação das áreas de risco. Aquelas áreas tidas como de alto risco apresentam indivíduos com maior carga parasitária. Caso não haja intervenção, essa situação pode levar à manutenção do processo de regulação natural do parasita.[13] Faz-se importante a participação da comunidade civil de modo a colocar efetivamente em prática medidas dos serviços públicos para que, dessa forma, haja sucesso na execução de saneamento básico e rompam com barreiras autoritárias e pouco participativas por parte da população nos projetos de saneamento.[13]

Os helmintos e os protozoários constituem os patógenos mais frequentes no Brasil. Podem causar danos severos à saúde do indivíduo, como, por exemplo, comprometimento funcional. Portanto, vale frisar que, além dessas mazelas serem um problema de saúde pública, elas servem como indicador de desenvolvimento socioeconômico de uma nação, tendo em vista que os seus agravos vão além de meros problemas gastrointestinais tratados pela medicina.[14]

Concordando com os resultados encontrados neste estudo, Santos[15] identificou uma prevalência análoga de 42% de enteroparasitas em um estudo realizado com dados de dois laboratórios na população de Duque de Caxias (RJ). Além disso, verifica-se positivismo de 35% das amostras do estudo de Ludwig KM et al.,[16] tornando o presente estudo consonante a tal. Como o índice de parasitoses está estreitamente ligado a fatores socioeconômicos, alguns estudos podem apresentar valores de positividade de enteroparasitas discrepantes do atual estudo uma vez que, no Brasil, as regiões possuem climas e condições de saneamento básico diferentes.[17]

Quanto à observação do gênero mais afetado, o estudo de Lima FKO[18] mostra uma prevalência maior para o gênero feminino, de 10,17, que equivale a 63,64%, e menor para o gênero masculino, de 5,81, que equivale a 36,35% em uma pesquisa realizada na cidade de Orós (CE), estando de acordo com o presente estudo, em que foi de 61% para o gênero feminino e de 39% para o gênero masculino. Embora o gênero feminino seja o mais afetado nesse estudo, e nos acima citados, não existe evidência científica que justifique esse fato. Porém, é importante ressaltar que as mulheres são o grupo que mais procura atendimento em exames de rotina e mais realiza trabalhos domésticos diariamente, como, por exemplo, cozinhar, onde têm contato mais efetivo com alimentos e água, que, como visto acima, são meios de transmissão das formas infectantes desses parasitas.[13]

Em relação ao tipo de parasitismo, no estudo de Lima FKO[18] foi encontrada na cidade de Orós (CE) uma proporção maior para o monoparasitismo do que para o poliparasitismo, sendo respectivamente 75,16% e 24,84%, o que está em consonância com o atual estudo que apresenta proporções parecidas. A quantidade menor de poliparasitas é tida para alguns autores como adoção do município por melhores condições sanitárias. E o poliparasitismo ocorre, na maioria das vezes, por pouca qualidade da água consumida, dejetos humanos dispostos em ambientes inadequados, despejo de lixo próximo à água utilizada para consumo humano.[11]

Em relação à associação de parasitas ou poliparasitismo, no estudo de Lacerda JS e Jardim CML,[15] realizado na cidade de Araçatuba (SP), foi encontrado como mais frequentes espécies de poliparasitismo *Entamoeba coli* + *Endolimax nana*, estando o presente estudo de acordo com esse achado em que o poliparasitismo mais frequente é entre essas duas espécies. Tais espécies não possuem potencial patogênico, mas, por desequilíbrio entre parasito e hospedeiro, a forma trofozoíto invade a submucosa e consegue se multiplicar ativamente. Esse fenômeno de maior associação entre essas duas espécies de protozoários pode ser justificado pelo motivo de os protozoários serem mais resistentes que os helmintos às adversidades do meio ambiente em suas formas infectantes, que são os cistos. Além disso, possuem mesma forma de transmissão, e, apesar do ambiente possuir saneamento, existe a contaminação interpessoal.[19]

O parasita encontrado em maior frequência no estudo de Santos[20] foi a espécie *Endolimax nana*. No estudo de Antunes,[21] a espécie mais presente nos resultados também foi *Endolimax nana*, estando os dois estudos combinando com a vigente pesquisa. Justifica-se isso, pois é uma espécie de transmissão oral/fecal, uma vez que humanos comumente consomem alimentos *in natura* irrigado e manipulados com água contaminada.[22] Ainda que não sejam considerados patogênicos aos seres humanos, esses protozoários são importantes bioindicadores na contaminação fecal de água e alimentos.[23]

A faixa etária mais acometida por enteroparasitoses no estudo de Barbosa,[17] realizado na cidade de Minas e região (MG), foi de 0 a 12 anos. No estudo de Busato,[13] realizado em Santa Catarina, foi encontrada maior prevalência de enteroparasitoses na faixa etária de 0 a 8 anos, corroborando com o corrente estudo, que obteve prevalência para o grupo etário de 0 a 10 anos. Tal evidência é explicada pelo fato de as crianças não realizarem medidas de higiene pessoal de forma adequada e também pelo fato de se exporem frequentemente a solos e água, sendo, pois, dois importantes foco de contaminação.[14] Ao observar o grupo etário infantil, percebe-se que as principais doenças encontradas são ocasionadas por parasitas intestinais, muito comuns nessa idade, uma vez que o sistema imunológico das crianças não tem capacidade suficiente de combater esses agentes e ainda existe facilidade de transmissão das formas infectantes desses parasitas por meio da água e alimentos contaminados.[21]

A pesquisa no grande dimensionamento da ocorrência de enteroparasitoses no Brasil tem sido incansavelmente buscada, principalmente a partir de 1940. Os achados relatados no campo acadêmico da prevalência das parasitoses são pontuais com amostragem limitada nas diferentes populações das diferentes regiões brasileiras. Somado a isso, a determinação dos índices de prevalência das enteroparasitoses são muitas vezes feitas com metodologias diferentes, logo dificultando de forma significativa a comparação entre muitos trabalhos.[21]

Portanto, o presente estudo evidencia as principais variáveis observadas durante a avaliação dos paciente acometidos por enteroparasitoses no município de Buriti dos Lopes, comparadas com outras cidades de estados que apresentam clima e condições de saneamento básico diferentes, mas que os resultados foram parecidos, ressaltando a importância da realização de medidas tanto pelo serviço público quanto pelas comunidades voltadas para a saúde, pois, apesar dos resultados prevalentes terem sido de espécies de enteroparasitas não patogênicas, foram encontradas espécies bastante danosas a uma população, como *Giardia* sp. e *Ascaris lumbricoides*. Ademais, os resultados encontrados servem de bioindicadores da população estudada, o que deixa claro a baixa qualidade higiênica da água e alimentos consumidos. Portanto, faz-se necessária a implantação de medidas mais efetivas de tratamento de água e alimentos nesse município, uma vez que são os principais meios de veiculação das duas espécies mais prevalentes.

CONCLUSÕES

A ocorrência de enteroparasitoses continua sendo um problema de saúde pública. As circunstâncias de saneamento básico e higiene são fatores que têm colaborado com a frequência de aparecimento desses parasitas. A promoção de ações, campanhas de governo conduzidas à prevenção e controle dessas parasitoses para conscientização da população juntamente com associação do tratamento, são de suma importância para reduzir os índices de prevalência desses parasitas.[24]

Abstract

Objective: *The present study aimed to analyze the prevalence of enteroparasites in the popular clinics served at Buriti dos Lopes-PI, during the months of February to October 2017.* ***Methods:*** *This is a quantitative, descriptive and retrospective study, in which data collected from the medical records of the laboratory in question were used.* ***Results:*** *Among the charts analyzed, (41%) of the cases were positive; there was a*

prevalence of the presence of parasites in the female sex (61%); the cases that presented monoparasitism had a higher prevalence (76%). In relation to poliparasitism, the highest association found among the parasites was Entamoeba coli *and* Endolimax nana *(55.7%). The most commonly detected parasite was* Endolimax nana*; the most parasitized age group was between 0 and 10 years (32%).* ***Conclusion:*** *The conditions of basic sanitation and hygiene associated to the treatment are indispensable factors to reduce the frequency of these parasites. Despite improvements in indices, these parasites continue to be a frequent problem for the population.*

Keywords
Epidemiology; Helminths; Intestinal parasites

REFERÊNCIAS

1. Damasceno NS, Costa TL. Incidência de enteroparasitoses em pacientes atendidos por um hospital universitário da cidade de Goiânia GO Brasil. Rio de Janeiro: RBAC, [s.n.] 2017.
2. Oliveira ESL, Silva JS. Índice de parasitoses intestinais nas zonas urbana e rural do munícipio de Caputira - Estado de Minas Gerais. Pensar Acadêmico, Manhuaçu MG, v. 14, n. 2, p. 143-152, jul. - dez., 2016.
3. Stevens A, Lowe J. Patologia.1a. ed. São Paulo: Manole Ltda, 2002. p. 130.
4. Reuter CP, Furtado LBFS, Silva R, Pasa L, Klinger EI, Santos CE, et al. Frequência de parasitoses intestinais: um estudo com crianças de uma creche de Santa Cruz do Sul, RS. Cinergis. 2015;16: 142-7.
5. Konemam, WCW Jr., et al. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. In: Eiler Fritsch Toros; tradução de Eiler Fritsch Toros, et al. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
6. Ferraz RRN, Barnabé AS, Porcy C, Júnior AD, Feitosa T, Figueiredo PM. Parasitoses intestinais e baixos índices de Gini em Macapá (AP) e Timon (MA), Brasil. Cad. Saúde colet. Rio de Janeiro, vol.22, n.2, p. 174, abr. - Jun. 2014.
7. Lopes-Mori FMR, Mitsuka-Bregano R, Oliveira FJA, Dutra MCMN, Sarzi MBL, Aidar MR, et al. Fatores associados a enteroparasitoses em escolares da rede municipal de ensino de Cambé. Semina cienc. biol. Saúde, Paraná, v.37, n. 1, p. 15-24, jan.- jun., 2016.
8. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (Brasil). [acesso em 18 abr 2018]. Disponível em: https:cidades.ibge.gov.br/brasil/pi/buritidos-lopes/panorama.
9. D carlli GA. Seleção de Métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas. Parasitologia Clínica, São Paulo, p. 58-59, Editora Atheneu Ltda, 2001.
10. Benitez AN, Mareze M, Miura AC, Brunieri DTSC, Ferreira FP, Mitsuka-Breganó R, et al. Abordagem da saúde única na ocorrência de enteroparasitas em humanos de área urbana no norte do Paraná. Rev. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, Umuarama, v. 19, n. 4, p. 203-208, out./dez. 2016.
11. Prado NGP. A água é o melhor remédio - proposta de intervenção para redução dos casos de parasitose intestinal na cidade de Senhora dos Remédios - Minas Gerais. Belo Horizonte. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em saúde da família) - Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, 2016.
12. Melo AR, et al. Ocorrência de parasitos intestinais em laudos parasitológicos de fezes de um laboratório privado do município de Bacabal - MA. Rev. Enciclopédia Biosfera, centro científico conhecer, v. 11, n.21, p.3420, Goiânia, 2015.
13. Busato MA, Antoniolli MA, Teo CRPA, Ferraz L, Poli G, Tonini P. Relação de parasitoses intestinais com as condições de saneamento básico. Rev. Ciência Cuidado Saúde. v. 13, n. 2, p. 357-363. Santa Catarina, 2014.
14. Hoshi AT, et al. Prevalência de parasitoses intestinais em escolares do ensino fundamental em uma escola estadual da cidade Medianeira. Paraná, 2014.
15. Lacerda JS, Jardim CML. Estudo da Prevalência de Parasitoses Intestinais de um laboratório privado de Araçatuba SP. Rev. Saúde UniToledo. v.01, n. 01, p.107-120, mar. - ago, 2017.
16. Ludwig M, et al. Ocorrência de enteroparasitoses na população de um bairro da cidade de Cândido Mota - SP. Journal of the Health Sciences Institute, v.30, n.3, p. 271. São Paulo, 2012.
17. Barbosa MCF, Duarte VE, Silva GM, Vieira JM, Silva LTC, Batista LT, et al. Investigação da Incidência de parasitoses em Pará de Minas - MG e região. Rev. Digital FAPAM. v. 7, n. 7. p. 171-178. Pará de Minas - MG, 2016.
18. Lima FKO. Ocorrência de parasitoses intestinais em pacientes atendidos no Laboratório Municipal da cidade de Orós - CE. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.
19. Martins ND, Cardoso KCI, Couto AARD. Estudo da prevalência de enteroparasitoses no município de Ferreira Gome/AP após a enchente em 2011. Rev. Biota Amazônia. v. 4, n. 3, p. 15-24. Macapá, 2014.
20. Santos MR, Rodrigues PC, Cardozo SV. Frequência de parasitas obtidos de amostras fecais identificadas em um laboratório público e outro privado no município de Duque de Caxias - RJ. Rev. Rede de Cuidados em Saúde. Rio de Janeiro, 2013.
21. Antunes AS, Libardoni KSB. Prevalência de enteroparasitoses em crianças de creches do município de Santo Ângelo, RS. Rev. Contexto e Saúde. v. 17. n. 32. p. 144. Rio Grande do Sul, 2017.
22. Nomura PR, Ferreira AR, Rafaelli RA. Estudo da incidência de parasitas intestinais em verduras comercializadas em feira livre e supermercado de Londrina. Rev. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 36, n. 1, p. 209-214, ago. 2015.
23. Fernandes NS, Guimarães HR, Amorim ACS, Brito VM, Borges EP, Reis MB, et al. Ocorrência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos de restaurantes de Parnaíba, Piauí- Brasil. Rev. patol. trop, v. 43, n.4, p.459-469, out.- dez. 2014.
24. Cavalcante UMB, Melo SAL, Lima CMB. Enteroparasitoses na população infantil, sua prevalência e os modelos de decisão utilizados: revisão sistemática. Rev Saúde e Pesquisa, v. 8, n. 3, p. 585-590, set./dez. 2015.

Correspondência
Aline Cristina de Paiva Sousa
Av. São Sebastião, 2819 - São Benedito
64202-020 - Parnaíba-PI, Brasil

Paciente acometido por leucemia mieloide aguda com T(6;9): relato de caso

Patient stricken by acute myeloid leukemia with T(6;9): Case report

Tamine Jandrey da Rosa

Resumo
A translocação envolvendo os cromossomos 6 e 9 é uma aberração citogenética rara, encontrada em pacientes com leucemia mieloide aguda. É uma doença com mal prognóstico, onde a remissão completa só ocorre em alguns casos, com transplante de medula óssea, se diagnosticada precocemente. Não há sucesso no tratamento com quimioterapia convencional. Neste estudo é relatado o caso de um paciente com 25 anos de idade, sexo masculino, que compareceu na emergência de um hospital em Novo Hamburgo apresentando um ferimento, em uma das pernas, com dificuldade de cura e hematomas, onde foram realizados os exames e foi diagnosticado com LMA com t(6;9). O paciente foi a óbito 27 dias após a internação hospitalar.

Palavras-chave
Leucemia mieloide aguda; Translocação genética; Aberrações cromossômicas

INTRODUÇÃO

A leucemia mieloide aguda (LMA) com translocação envolvendo os cromossomos 6 e 9 (t(6;9)) é uma doença rara e constitui menos de 5% de todos os casos, adultos e pediátricos, de LMA.[1,2,3] Está associada a um prognóstico pobre e define um grupo de pacientes de alto risco. Esta aberração citogenética resulta na formação de um gene de fusão quimérica (DEK/NUP214) no cromossomo derivado 6, DER(6), e foi identificada pela primeira vez em LMA por Rowley e Potter em 1976.[1,4-7]

Leucemias são frequentemente associadas com aberrações cromossômicas (translocações, inversões, ou deleções) que são específicas para determinados subtipos da doença.[1,7] A t(6;9) tem sido relatada em leucemia mieloide aguda, precedida de síndromes mielodisplásicas, e em pacientes que têm evolução da LMA após a exposição prévia a quimioterapia.[8,9] Dada a raridade deste subgrupo particular de LMA, há relatos na literatura que tentam descrever a incidência, as características clínicas associadas, e o prognóstico, mas deixam incertezas sobre a natureza da t(6;9).([6,10]

A t(6;9) é, na maioria dos casos, a única anormalidade citogenética.[1,5,10,11] A doença geralmente afeta indivíduos adultos jovens (idade média de 25 a 30 anos), mas pode ocorrer em um intervalo entre 2 a 66 anos. Ambos os sexos são igualmente afetados.[5,8,12,13] Os sintomas são devido à citopenia, muitas vezes vista na leucemia, como fadiga devido à anemia, tendência a sangramentos por causa da trombocitopenia e aumento da incidência de infecções.[5]

A maioria dos pacientes com esta doença é diagnosticada com LMA de subtipos M2 ou M4, de acordo com a classificação franco-americana-britânica (FAB), e muitos mostram evidência de mielodisplasia subjacente ou anterior.[1,5,9,12] O diagnóstico de subtipo deve ser confirmado por análise citogenética e molecular.[1,2,4] Estudos apontam que, em 60% dos casos, a classificação é de subtipo M2, e em 30% dos casos, de subtipo M4.[8]

A LMA de subtipo M4 – Leucemia mielomonocítica, apresenta, na medula óssea, blastos mais que 30% das células não eritroides. A somatória dos mieloblastos, promielócitos, mielócito e granulócitos tardios situam-se entre 30% e 80% das células não eritroides. Mais de 20% das células não eritroides são de linhagem monocítica. O número de monócitos do sangue periférico é maior que $5{,}0\times10^9$/l. Quando a contagem de monócitos for inferior a $5{,}0\times10^9$/l, o diagnóstico de M4 pode ser confirmado com base na lisozima sérica e esterase combinada. O diagnóstico de M4 pode ser confirmado quando os monócitos são responsáveis por mais de 20% dos precursores da medula.[14]

[1]Pós-graduação – Universidade Feevale – Biomédica plantonista – Nova Hamburgo-RS, Brasil.

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

Recebido em 21/06/2017
Artigo aprovado em 12/04/2018
DOI: 10.21877/2448-3877.201800588

RELATO DE CASO

Paciente do sexo masculino, 25 anos de idade, cor branca, procurou a emergência de um hospital em Novo Hamburgo devido a um ferimento, em uma das pernas, com dificuldade de cura e apresentando hematomas. Foram realizados exames iniciais onde apresentou, no hemograma, anemia normocítica, normocrômica com hemoglobina de 8,90g/dL, eritrócitos de 2,74 milhões/mm^3, hematócrito de 25,70% e policromatofilia discreta, total de leucócitos de 15.930/uL com 15% de blastos, 3% de promielócito, 6% de mielócito, 6% de metamielócito, 20% de bastonetes, 23,5% de segmentados, 0,1% de eosinófilos, 0,2% de basófilos, 18,3% de monócitos, 7,9% de linfócitos e número de plaquetas reduzido. Testes bioquímicos, ureia, creatinina e potássio encontravam-se dentro dos valores de referência. A partir desses resultados, juntamente com a avaliação clínica, suspeitou-se de leucemia.

O paciente foi internado no hospital. No dia seguinte à internação, o total de leucócitos passou a 19.270/uL e dois dias após, a 30.720/uL, persistindo anemia e plaquetopenia.

Com a evolução da doença, o paciente foi transferido para a unidade de terapia intensiva, com total de leucócitos de 64.800/uL, sendo 20% de blastos, anemia severa com hemoglobina de 4,60 g/dL, eritrócitos de 1,47 milhões /mm^3, hematócrito de 14,20%, anisocitose, pecilocitose e policromatofilia com contagem de plaquetas de 34.000 p/mm^3. As dosagens bioquímicas de creatinina e potássio permaneceram dentro da normalidade, sódio 136 mEq/L, ácido úrico 2,6 mg/dL e lactato desidrogenase 1.597 U/L.

Foi realizada a punção de medula óssea e, após avaliação hematológica, foi confirmada a suspeita clínica e o paciente foi diagnosticado com leucemia mieloide aguda. Os testes de imunofenotipagem confirmaram o subtipo da doença, que foi classificada como M4. Os exames de biologia molecular também revelaram uma alteração citogenética rara, a translocação envolvendo os cromossomos 6 e 9.

A partir desse diagnóstico, foi dado início ao processo de quimioterapia, aplicando o esquema de indução, com citarabina associada a idarubicina. A citarabina 100 mg/m^2 foi administrada intravenosamente, com infusão contínua por sete dias. A idarubicina 10 mg/m^2 foi administrada nos dias 1, 3 e 5, também pela via intravenosa.

Com o tratamento, a contagem de leucócitos teve uma queda súbita chegando a 130/uL, mas devido ao mau prognóstico e sem resposta à quimioterapia a doença evoluiu, levando o paciente a óbito 27 dias após a internação hospitalar.

DISCUSSÃO

A t(6;9) positiva na LMA é classificada como uma entidade clínica distinta, devido ao seu início precoce e prognóstico reservado.[3] É uma doença relativamente rara, associada a características morfológicas e clínicas específicas e tem um prognóstico ruim.[8,11]

O hemograma completo em LMA com t(6;9) normalmente revela resultados de falência da medula óssea com anemia e trombocitopenia. Geralmente, a contagem de leucócitos é mais baixa do que aquelas observadas em outros subtipos de LMA.[5,6,10,15] A fase de displasia mieloide pode preceder a leucemia aguda e afeta principalmente adultos jovens.[8,11]

A análise citogenética e a detecção molecular do gene de fusão DEK-NUP214 por reação em cadeia da polimerase (PCR) são estudos auxiliares muito importantes para o diagnóstico de LMA com t(6;9).[5]

Estudos mostram que as translocações na LMA têm como característica levar à formação de genes de fusão e de proteínas quiméricas que contribuem presumivelmente para o processo de transformação neoplásica e a progressão do tumor.[16]

A caracterização molecular mais detalhada dessas aberrações pode identificar genes envolvidos na leucemogênese e na regulação precisa da proliferação e diferenciação no sistema hematopoiético. A ocorrência de translocações cromossômicas definidas em subtipos específicos de leucemia sugere fortemente que estas translocações desempenham um papel importante no processo de leucemogênese. Como o resultado de uma translocação, a função ou atividade localizada em um ponto de interrupção do gene é alterada. As translocações podem ativar genes celulares nas proximidades envolvidos no controle da proliferação e/ou diferenciação.[8,12,17,18]

A t(6;9) é, muitas vezes, a única anormalidade citogenética presente nas células neoplásicas, que defende um envolvimento direto no processo leucêmico.[5,8,10,13] Esta translocação envolve uma troca recíproca de material genético entre o braço curto (p) do cromossomo 6 e o braço longo (q) do cromossomo 9 t(6;9) (p23; q34).[3,7] Isso resulta em um gene quimérico de fusão entre DEK (6p23) e NUP214 (9q34).[5,10,11,13] Este gene de fusão codifica um RNA mensageiro envolvido na leucemogênese. O NUP214 é um oncogene putativo com múltiplos rearranjos de sequência do gene de fusão, e que codifica uma proteína complexa associada com o transporte nucleocitoplasmático. Ele pode ser ativado por meio da fusão da sua extremidade 3' com outros genes, como DEK.[5,10,13]

Os pontos de interrupção estão localizados em um íntron de 9kb, onde ocorre a translocação no cromossomo 6 (ICB-6). O gene CAN no cromossomo 9 possui mais de 130Kb de comprimento, onde os pontos de interrupção ocorrem em um íntron de 7,5Kb (ICB-9) que está localizado no meio do gene.[11]

Embora a posição exata dos pontos de interrupção em ICB-9 e ICB-6 possa variar, os mesmos éxons de DEK

e CAN são unidos por *splicing* da transcrição primária do gene de fusão. A transcrição invariável de DEK-CAN pode ser usada como um marcador de LMA com t(6;9), que pode ser sensivelmente monitorado por reação em cadeia da polimerase. Esta pode ser uma grande vantagem para o diagnóstico, a monitorização da resposta à quimioterapia, e a detecção de doença residual mínima após o transplante de medula óssea.[1,11]

Em pacientes com LMA com t(6;9), o gene de fusão DEK-NUP214 é responsável pelo mau prognóstico da doença, uma vez que foi demonstrado ser incapaz de bloquear a diferenciação de células progenitoras hematopoiéticas.[3,5,13] Esses pacientes têm taxas muito baixas de remissão completa da doença.[3,5]

Oancea et al. descobriram que o gene DEK/CAN inicia a leucemia a partir de uma pequena subpopulação, dentro da população de células-tronco hematopoiéticas (HSC), que expressa um padrão de marcador de superfície de longo prazo (LT) HSC. A propagação estabelecida à leucemia DEK/CAN-positiva não se restringe à população LT-HSC, mas ocorre, mesmo a partir de populações de células mais maduras e heterogêneas. Esta descoberta indica que existe uma diferença entre as células de iniciação da leucemia (L-ICs) e as células de manutenção da leucemia (L-MCs). Em contraste com as L-ICs representadas por uma rara subpopulação de LT-HSC, as L-MCs parecem ser representadas por uma população de células maior e fenotipicamente heterogênea.[13]

Os estudos de Oancea et al. provaram que o gene DEK/CAN tem potencial leucemogênico e que apenas exerce os seus efeitos em subpopulação muito pequena de células. Nesses estudos foram mostrados que o gene DEK/CAN promove um aumento das células-tronco hematopoiéticas, mas não confere aumento da capacidade das células LT.[13]

A presença de mielodisplasia em pacientes com t(6;9) sugere um envolvimento de uma célula-tronco pluripotente e a necessidade de considerar outra estratégia terapêutica que não a quimioterapia convencional.[9,18-20]

O diagnóstico correto de t(6;9) é de extrema importância na tentativa para melhorar o prognóstico para esses pacientes no futuro. Uma vez que a translocação recíproca envolve pequenos fragmentos cromossômicos de morfologias semelhantes, o diagnóstico citogenético pode ser difícil.[11]

Estudos recentes relataram uma sobrevida de cinco anos em 28% dos casos em crianças e 9% em adultos.[1,3] Estudos demonstraram também que o tratamento com transplante alogênico de medula óssea de início imediato com células-tronco hematopoiéticas pode ser a única terapia para se alcançar a remissão completa e poder melhorar o resultado clínico da doença.[1,3,5]

Estratégias terapêuticas agressivas e inovadoras para LMA com t(6;9), estão sendo investigadas. Um ensaio clínico multicêntrico de terapias à base de anti-CD33 mais um inibidor de FLT3 para pacientes sem doadores adequados, podem ser úteis.[5]

A maioria dos casos de t(6;9) não foi totalmente caracterizada. Muitos casos relatados na literatura ou em relatórios de estudos moleculares e citogenéticos destas neoplasias não incluem uma descrição clínica e patológica adequada e aprofundada.[4]

CONCLUSÃO

A LMA é uma doença rara de evolução muito rápida e de extrema gravidade, podendo levar ao óbito em poucos dias. O hemograma, muitas vezes, é o exame que levanta a suspeita diagnóstica. O diagnóstico preciso e precoce é essencial, pois pode aumentar a chance de cura dos pacientes, onde sua carga tumoral é bem inferior àquela dos pacientes com diagnóstico tardio, possibilitando melhores resultados no tratamento desta enfermidade.

O mau resultado com a quimioterapia atualmente disponível, que não parece melhorar a sobrevida dos pacientes, exige a consideração de estratégias terapêuticas alternativas, como o transplante de medula óssea precoce.

A LMA com t(6;9) precisa ganhar mais atenção, pois os pacientes diagnosticados com essa doença têm um prognóstico muito pobre. No entanto, o diagnóstico preciso é fundamental, pois estes doentes podem se beneficiar de transplante de células-tronco hematopoiéticas o quanto antes.

O que é evidente é que, para melhorar o resultado para t(6;9) e outros subtipos de LMA raros, há uma necessidade de melhoria das novas terapias que precisam ser estudas e avaliadas.

Abstract

The translocation involving chromosomes 6 and 9 is a rare cytogenetic aberration found in patients with acute myelogenous leukemia. It is a disease with bad prognosis, where the complete remission occurs only in some cases, with bone marrow transplantation, if diagnosed early. Do not have successful treatment with conventional chemotherapy. In this study we report the case of a patient with 25 year old male, who attended the emergency hospital in Novo Hamburgo showing a wound on one leg, with limited healing and bleeding where the examinations and has been performed diagnosed with AML with t(6;9). The patient died 27 days after hospital admission.

Keywords

Acute Myeloid Leukemia; Genetic translocation; Chromosome aberrations

REFERÊNCIAS

1. Sandahl JD, Coenen EA, Forestier E, Harbott J, Johansson B, Kerndrup G, et al. t(6;9)(p22;q34)/DEK-NUP214-rearranged pediatric myeloid leukemia: an international study of 62 patients. Haematologica. 2014 May;99(5):865-72.

2. Alsabeh R, Brynes RK, Slovak ML, Arber DA. Acute myeloid leukemia with t(6;9) (p23;q34): association with myelodysplasia, basophilia, and initial CD34 negative immunophenotype. Am J Clin Pathol. 1997 Apr;107(4):430-7.
3. Song Y, Bixby D, Roulston D, Magenau J, Choi SW. The Challenge of t (6;9) and FLT3-Positive Acute Myelogenous Leukemia in a Young Adult. J Leuk (Los Angel). 2014;2. pii: 1000167.
4. Oyarzo MP, Lin P, Glassman A, Bueso-Ramos CE, Luthra R, Medeiros LJ. Acute myeloid leukemia with t(6;9)(p23;q34) is associated with dysplasia and a high frequency of flt3 gene mutations. Am J Clin Pathol. 2004 Sep;122(3):348-58.
5. Chi Y, Lindgren V, Quigley S, Gaitonde S. Acute myelogenous leukemia with t(6;9)(p23;q34) and marrow basophilia: an overview. Arch Pathol Lab Med. 2008 Nov;132(11):1835-7.
6. Slovak ML, Gundacker H, Bloomfield CD, Dewald G, Appelbaum FR, Larson RA, et al. A retrospective study of 69 patients with t(6;9)(p23;q34) AML emphasizes the need for a prospective, multicenter initiative for rare 'poor prognosis' myeloid malignancies. Leukemia. 2006 Jul;20(7):1295-7.
7. Westbrook CA, Le Beau MM, Diaz MO, Groffen J, Rowley JD. Chromosomal localization and characterization of c-abl in the t(6;9) of acute nonlymphocytic leukemia. Proc Natl Acad Sci U S A. 1985 Dec;82(24):8742-6.
8. von Lindern M, Poustka A, Lerach H, Grosveld G. The (6;9) chromosome translocation, associated with a specific subtype of acute nonlymphocytic leukemia, leads to aberrant transcription of a target gene on 9q34.Mol Cell Biol. 1990 Aug;10(8):4016-26.
9. Horsman DE, Kalousek DK. Acute myelomonocytic leukemia (AML-M4) and translocation t(6;9)(p23);q34): two additional patients with prominent myelodysplasia. Am J Hematol. 1987 Sep; 26(1):77-82.
10. Garçon L, Libura M, Delabesse E, Valensi F, Asnafi V, Berger C, et al. DEK-CAN molecular monitoring of myeloid malignancies could aid therapeutic stratification. Leukemia, 2005;19:1338-44.
11. Soekarman D, von Lindern M, Daenen S, de Jong B, Fonatsch C, Heinze B, et al. The translocation (6;9) (p23;q34) shows consistent rearrangement of two genes and defines a myeloproliferative disorder with specific clinical features. Blood. 1992 Jun 1;79 (11): 2990-7.
12. von Lindern M, Fornerod M, van Baal S, Jaegle M, de Wit T, Buijs A, Grosveld G. The translocation (6;9), associated with a specific subtype of acute myeloid leukemia, results in the fusion of two genes, dek and can, and the expression of a chimeric, leukemia-specific dek-can mRNA. Mol Cell Biol. 1992 Apr;12(4): 1687-97.
13. Oancea C, Rüster B, Henschler R, Puccetti E, Ruthardt M. The t(6;9) associated DEK/CAN fusion protein targets a population of long-term repopulating hematopoietic stem cells for leukemogenic transformation. Leukemia. 2010 Nov;24(11):1910-9.
14. Hoffbrand V, Pettit J. Atlas colorido de Hematologia Clínica. 3ª ed. São Paulo (SP): Manole Ltda; 2001; p. 139-166.
15. Pearson MG, Vardiman JW, Le Beau MM, Rowley JD, Schwartz S, Kerman SL, et al.Increased numbers of marrow basophils may be associated with a t(6;9) in ANLL. Am J Hematol. 1985 Apr;18(4): 393-403.
16. Miyoshi H, Kozu T, Shimizu K, Enomoto K, Maseki N, Kaneko Y, et al. The t(8;21) translocation in acute myeloid leukemia results in production of an AML1- MTG8 fusion transcript. EMBO J. 1993 Jul;12(7):2715-21.
17. Miyoshi H, Shimizu K, Kozu T, Maseki N, Kaneko Y, Ohki M. t(8;21) breakpoints on chromosome 21 in acute myeloid leukemia are clustered within a limited region of a single gene, AML1. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991 Dec 1;88(23):10431-4.
18. Horsman DE, Kalousek DK. Acute myelomonocytic leukemia (AML-M4) and translocation t(6;9)(p23);q34): two additional patients with prominent myelodysplasia. Am J Hematol. 1987 Sep;26(1):77-82.
19. Thiede C, Steudel C, Mohr B, Schaich M, Schäkel U, Platzbecker UA, et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. Blood. 2002 Jun 15;99(12):4326-35.
20. Schnittger S, Schoch C, Dugas M, Kern W, Staib P, Wuchter C, et al. Analysis of FLT3 length mutations in 1003 patients with acute myeloid leukemia: correlation to cytogenetics, FAB subtype, and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease. Blood. 2002 Jul 1;100(1):59-66.

Correspondência
Tamine Jandrey da Rosa
Rua Lopes Trovão, 333 - compl. 19-302 - Bairro Industrial
93320-500 – Novo Hamburgo-RS, Brasil

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: ____/_____/_____.



APP PNCQ

Você já pode adquirir amostras para Controle Interno da Qualidade direto de seu smartphone!

Atenção: em breve a solicitação de amostras de PRO-IN só será aceita pela plataforma – não serão mais recebidos pedidos por e-mail.

O próximo módulo, já em desenvolvimento, é o PRO-EX, para o envio de resultados e acesso às Avaliações Mensais de nossos Associados.



CONHEÇA ALGUNS DOS BENEFÍCIOS:

- Acesse de qualquer dispositivo móvel
- Navegue de maneira simples
- Rastreie os seus pedidos
- Faça orçamentos com mais rapidez
- Programe repetição automática dos pedidos

Baixe já e passe a utilizar hoje mesmo!

Fique de olho,vêm aí muitas novidades para você.

Disponível para:

Available on the iPhone App Store

GET IT ON Google Play

PNCQ® Programa Nacional de Controle de Qualidade

VEUS TECHNOLOGY