SBAC

RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas

Brazilian Journal of Clinical Analyses

Volume 54 - N 01 | Ano 2022

ISSN 2448-3877



5 vantagens
de ser um associado SBAC



1. Acesso garantido a todos os eventos, sem a necessidade de pedir vouchers
2. Acesso à videos da temporada 2020 e eventos especiais

2 Certificação profissional

A SBAC é a entidade nacional competente para emitir o Título de Especialista em Análises Clínica.

3. Acesso gratuito a downloads e artigos desse programa de valorização das análises clínicas da SBAC

VALORIZALAB
SBAC Movimento de Valorização das Análises Clínicas

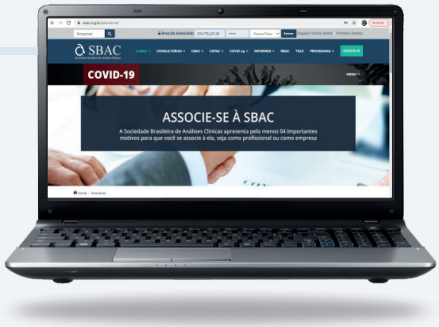
EXAMES PELA VIDA

4. PNCQ® Programa Nacional de Controle de Qualidade
Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

33% de desconto na mensalidade do seu controle de qualidade

5 Atualização profissional

Descontos na participação em cursos, seminários, eventos e congressos



Como se tornar um associado SBAC:

1. Acesse **sbac.org.br/associe-se**
2. Selecione o tipo de associação (**PF ou PJ**)
3. Ao final da página clique em "**Associe-se aqui**"
4. Preencha o formulário com seus dados e aperte enviar
5. Além de receber um e-mail de confirmação, você será direcionado para a página de associados, aonde terá o acesso ao boleto
6. Após a confirmação do pagamento, o acesso a todos os conteúdos é liberado!

*Acadêmicos: Apenas Taxa de Inscrição R$ 42,00, isento da anuidade

SBAC
Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

sbac.org.br
/sbacorg
/sbacoficial

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 54 - Número 1 - 2022
Edição online - ISSN 2448-3877

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

Produção Editorial/*Publisher*
Editorarte Projetos de Comunicação e Editora Ltda.

Editores Associados/*Associate Editors*

Bacteriologia Clínica/*Clinical Bacteriological*
Joseli Maria da Rocha Nogueira

Bioquímica Clínica/*Clinical Biochemistry*
Mauren Isfer Anghebem

Gestão e Controle da Qualidade/*Quality Management and Control*
Flávia Martinello

Hematologia Clínica/*Clinical Hematology*
Júlio Cézar Merlim

Micologia Clínica/*Clinical Micology*
Sarah Gonçalves

Parasitologia Clínica/*Clinical Parasitology*
Lenilza Mattos Lima

Patologia Clínica Veterinária/*Veterinary Clinical Pathology*
Breno Fernando Martins de Almeida
Daniele Silvano Gonçalves

Uroanálise e Líquidos Biológicos/*Uroanalysis and Biological Liquids*
José Antonio Poloni

Corpo Editorial/*Editorial Board*

Adriana Dalpicolli Rodrigues - Brasil
Alessandro Conrado de Oliveira Silveira - Brasil
Ana Cristina Rivas da Silva - Brasil
Andréa Regina de Souza Baptista - Brasil
Andrea Silva - Chile
Carlos Álvarez - Chile
Claudia Regina Bonini - Brasil
Diogo André Pilger - Brasil
Eduardo Álvarez Duarte - Chile
Eleine Kuroki Anzai - Brasil
Juliane Araujo Greinert Goulart - Brasil
Luis Zaror Cornejo - Chile
Marcos Kneip Fleury - Brasil
Maria Elizabeth Menezes – Brasil
Maria Regina Reis Amendoeira - Brasil
Marilise Brittes Rott - Brasil
Patrício Godoy Martinez – Chile
Patrick Menezes Lourenço - Brasil
Ricardo David Couto - Brasil
Ricardo Luiz Dantas Machado - Brasil
Simone Martins de Castro - Brasil
Tiana Tasca - Brasil
Victor Silva - Chile
Vlademir Cantarelli - Brasil

SBAC
Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

DIRETORIA EXECUTIVA/*EXECUTIVE BOARD*

Maria Elizabeth Menezes (SC)
Presidente/*President*

Marcos Kneip Fleury (RJ)
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*

Jorge Luiz Joaquim Terrão (ES)
Tesoureiro Adjunto/*Assistent Treasurer*

Conselho Fiscal/*Fiscal Board*
Titulares/Holders
Juno Damasceno Silva (RJ)
Alverne Passos Barbosa (GO)
Júlio Cézar Merlin (PR)

Suplentes/Alternates
Marcello Ávila Mascarenhas (SP)
Iberê Ferreira da Silva Júnior (MT)
Paulo Roberto Hatschbach (PR)

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

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 54/*Volume 54* - Número 1/*Number 1*

Sumário / *Contents*

Carta da Presidente / *Presidente letter*

4 **A ciência como inspiração**
Science as inspiration
Menezes ME

Editorial / *Editorial*

6 **A história do exame de urina: Idade antiga**
The history of urine examination: Ancient age
Neufeld PM

Artigos de revisão / *Review articles*

8 **Adenoma hipofisário (prolactinoma) proveniente da disfunção hormonal da prolactina: revisão de literatura**
Pituitary adenoma (prolactinoma) from prolactin hormonal dysfunction: literature review
Kuraba TVP

16 **Os principais erros da fase pré-analítica de exames laboratoriais**
The main errors of the pre-analytical phase of laboratory exams
Oliveira RGAM, Silva GAF

26 **Interferência de medicamentos na avaliação do perfil lipídico: uma revisão de literatura**
Interference of medications in the evaluation of the lipid profile: a review of the literature
Mello PA, Rocha BG, Oliveira WN, Mendonça TS, Domingueti CP

31 **Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) no diagnóstico complementar da toxoplasmose congênita: uma revisão bibliográfica**
Polymerase Chain Reaction (PCR) in the complementary diagnosis of congenital toxoplasmosis: a bibliographic review
Berton BC, Dalzochio T

37 **Mecanismo de resistência da bactéria *Acinetobacter Baumannii* e suas implicações no controle das infecções hospitalares**
Mechanism of resistance of Acinetobacter Baumannii *bacteria and its implications in control of hospital infections*
Queiroz YM, Maciel IA, Santos FS

Artigo de atualização/*Update*

44 **O exame parasitológico de fezes frente a campanhas de desparasitação em massa – novos desafios e alternativas**
The parasitological stool examination in front of mass deworming campaigns - new challenges and alternatives
Oliveira YLDC, Dolabella SS

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 54/*Volume 54* - Número 1/*Number 1*

Sumário / *Contents*

Artigos originais/*Original articles*

50 **Comparação do mecanismo de heterorresistência em *Serratia marcescens* por *time kill curve* frente ao meropeném**
Comparison of heteroresistance mechanism in Serratia marcescens *by time kill curve against meropenem*
Santana HBM, Monteiro AS

55 **A importância dos fatores associados a não adesão ao exame preventivo do câncer de colo uterino por mulheres brasileiras – revisão sistemática**
The importance of factors associated with non-adherence to preventive screening for cervical cancer by Brazilian women – systematic review
Lima KF, LHCP, Gomes LM, Rodrigues-Antunes S, Feio DCA

62 **Alterações hematológicas na dengue grave – uma revisão sistemática**
Hematological changes in serious dengue – a systematic review
Portilho MM, Lima NVSC, Caires PSM

68 **Suplementação de probióticos: ferramenta no controle de infecções respiratórias virais – uma revisão sistemática**
Probiotics supplementation: a tool in the control of viral respiratory infection – a systematic review
Santos LG, Fróis LF, Agostini JVC, Melo CM

77 **Avaliação da formação de biofilme bacteriano em diferentes ligas metálicas ortopédicas**
Evaluation of the formation of bacterial biofilm in different orthopedic metallic alloys
Beiriz YR, Piffer AG, Moraes R, Santos RP, Bassetti BR, Zanon IB, Cardoso IM, Junior CJ, Pecinalli

82 **Evaluation of the level of knowledge and prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in Santa Catarina, Brazil**
Avaliação do nível de conhecimento e prevalência de infecção por Toxoplasma gondii *entre gestantes de Santa Catarina, Brasil*
Kohler AC, Serenini JV, Alves KD, Livramento A, Botelho TKR

87 **Controle da qualidade laboratorial: implementação de valores de referência próprios determinados no controle interno**
Quality control laboratory: implementation of proper reference valeus determinated by internal control
Brandelero E, Tessari FD

94 Instruções aos autores/*Instructions for authors*

A ciência como inspiração

Science as inspiration

Maria Elizabeth Menezes, *PhD* | Presidente da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas-SBAC

A Revista Brasileira de Análises Clínicas [RBAC] é o órgão de difusão científica da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas [SBAC] que, desde 1969, publica artigos na área do diagnóstico laboratorial, contribuindo com a atualização técnico-científica de suas diversas especialidades. Na realidade, essa é a função precípua da RBAC; qual seja, trazer o que se estuda e pesquisa em nosso país para o conhecimento dos profissionais que militam nas análises clínicas. Parafraseando Carlos Chagas Filho, professor da Universidade Federal do Rio de Janeiro [UFRJ], em seu lema: "A Universidade Ensina porque Pesquisa", a "RBAC publica o que se pesquisa". Publicar a pesquisa nacional é um desafio solidário. Um desafio solidário porque temos a total compreensão das dificuldades porque passam, já de longa data, as universidades e seus pesquisadores. No entanto, perseveramos juntos com os colegas que, dentro das inúmeras instituições de ensino, lutaram recentemente para contribuir, não só com o Brasil, mas com o mundo, para um melhor entendimento de uma pandemia que, de forma aguda, chegou adoecendo a humanidade.

A COVID-19 precisava ser entendida pelos profissionais de análises clínicas que, juntamente com médicos e enfermeiros, estavam na linha de frente, produzindo os mais diferentes diagnósticos laboratoriais para a confirmação da infecção viral e das diversas intercorrências causadas pela virose. A SBAC, percebendo a importância do momento histórico, através da RBAC, se mobilizou para, em associação com diferentes pesquisadores, preparar duas edições especiais sobre a infecção pelo Sars-Cov-2.

A primeira edição, publicada em 2020 [vol 52, no.2], com o título "A Tempestade do Coronavírus: Uma pandemia na Bancada do Laboratório Clínico", procurou trazer alguma luz científica, em meio ao torvelinho da infecção, aos profissionais do laboratório clínico. Nessa edição especial, foi tratado de temas como biossegurança, o diagnóstico laboratorial, o diagnóstico molecular, a hematologia da infecção, comorbidades e Covid e a vacinação. O assunto foi tratado de maneira a oferecer ao analista clínico subsídios para ele pensar metodica e cientificamente sobre os desafios profissionais que a pandemia nos impunha.

A segunda edição especial, publicada em 2021 [vol 53, no.2], cujo título foi "A Tempestade *in vitro*: O Diagnóstico de uma Pandemia", já num período trans-vacina, procurou consolidar conhecimentos científicos desenvolvidos ao longo de um ano, desde o começo da pandemia em 2019-2020. Assim, foram tratadas questões éticas, variantes do Sars-Cov-2, intercorrências infecto-parasitárias, drogas e avaliações farmacológicas, vacinas, diagnóstico sorológico e molecular.

A pandemia trouxe a reafirmação do papel da RBAC que é, efetivamente, difundir o conhecimento científico produzido em nosso país. No entanto, para além de trazer erudição, a RBAC talvez traga algo mais sutil e com maior poder transformador, a iluminação das mentes dos profissionais do diagnóstico laboratorial.

Com essa perspectiva filosófica, trazida pelo cotidiano da RBAC, nessa pandemia, é que iniciamos nossa gestão para o biênio 2022-2023. Entre tantos novos projetos e ideias, essa é inspiradora, qual seja, transformar a SBAC num farol para que a ciência [a verdadeira] e seu método permeiem a prática e o dia-a-dia das análises clínicas.

A história do exame de urina: Idade antiga

The history of urine examination: Ancient age

Paulo Murillo Neufeld, *PhD* | Editor-Chefe da RBAC

A medicina laboratorial teve seu começo há cerca de 6.000 anos com o estudo da urina humana que era classicamente denominado de uroscopia. Desde os tempos antigos até a era vitoriana, a urina foi utilizada como a principal ferramenta de diagnóstico da natureza das doenças dos indivíduos. O termo uroscopia é derivado do grego *ouron,* que significa urina, e *skopein*, que significa examinar, inspecionar, contemplar.

Os registros históricos dão conta de que os egípcios, babilônicos e sumérios foram os que iniciaram a arte da uroscopia. Médicos babilônicos e sumérios acerca de 4.000 aC registravam as avaliações de urina em tabletes de argila. Textos desses povos mencionavam e descreviam a aparência, o volume e a cor da urina. Termos babilônicos como *sinatu pizu* (urina branca ou pura), *sinatu zalmi* (urina preta), *urpati sinatu* (nuvens da urina), *tidu da sinatu* (lama ou sedimento da urina) e *sinatu bursi* (urina vermelha brilhante) eram indicativos de seu conhecimento no exame de urina. Particularmente, na Suméria, os médicos já associavam as características da urina com as alterações observadas em diferentes doenças.

Referências ao exame de urina podem ser encontradas também em textos egípcios antigos. No Papiro de *Kahun* (1900 aC) é mencionada a urina vermelha, que era evidência de infecção por *Schistosoma hematobium*, enquanto que no Papiro *Ebers* (1550 aC), a hematúria era atribuída a "vermes na barriga".

Há evidências nas obras de Charaka (300 aC) e Sushruta (700 aC), fundadores da medicina *Ayurveda*, sobre o reconhecimento do sabor doce da urina de indivíduos diabéticos e a observação de que formigas eram atraídas para ela, assim, esses insetos passaram a ser reconhecidos como meio de diagnóstico. Na medicina indiana antiga, o exame físico da urina também era empregado no diagnóstico em combinação com a aparência dos olhos, pele, voz e pulso do paciente. A cultura hindu também reconhecia que a urina de algumas pessoas tinha um gosto doce e que as formigas eram atraídas para ela.

Desde o século I antes de Cristo, o exame da urina era parte integrante do sistema hipocrático e, a mais 1.500 anos atrás, o *Corpus Medicus* Greco-Romano fazia descrições das características físicas da urina. Hipócrates (460-377aC) foi quem, inicialmente, levantou a hipótese de que a urina era um filtrado dos humores e que vinha dos rins. Em decorrência disso, Hipocrates passou a utilizar a urina como exame das funções do corpo humano e meio de diagnóstico, sendo empregada também como um método de prognóstico.

Nos antigos textos sânscritos, datados de 100 aC, todas as condições mórbidas da urina eram caracterizadas como *prameha* e categorizadas dentro de 20 grupos diferentes, derivados da fleuma, da bile ou do vento. Por exemplo, o termo *udakameha* fazia alusão

Recebido em 15/02/2022 | Aprovado em 26/02/2022 | DOI: 10.21877/2118-3877.202200069

à urina tipo água, enquanto o termo *surameha* referia-se à urina que se assemelhava ao conhaque. O termo *madhumeha* referia-se à "urina de mel", descrição atribuída à urina do *diabetes mellitus*.

Galeno de Pérgamo (129-216dC), relevante intérprete das ideias hipocráticas, destacou a importância da boa saúde para o equilíbrio dos humores corporais. Segundo Galeno, os rins e a urina desempenhavam um papel importante para esse equilíbrio. Galeno refinou as hipóteses de Hipócrates, teorizando que a urina representava não apenas um filtrado dos quatro humores, mas sim um filtrado do sangue. Galeno procurou tornar o diagnóstico de urina mais específico. Ele usou a frase "diarréia da urina" para descrever a micção excessiva e observou que era um sintoma atípico.

Avicena (980-1037 dC) notou também que a qualidade da urina era afetada pela comida e bebida ingeridas. Assim, a urina "ruim" estaria ligada à má digestão, catarro, frio, inquietação ou desequilíbrios humorais. Segundo Avicenna, a urina normal era aquela com aparência suave, cores sutis como bergamota (amarelo claro), que tinha odor suave (nem inodoro nem cheiro de putrefação). Ele acreditava que, se uma pessoa com uma doença grave tivesse essas especificações de urina, a condição estaria melhorando.

Um passo importante no exame de urina foi dado por Theophilus Protospatharius de Constantinopla (século VII dC), ao escrever o *De Urinis*, um texto sobre o exame macroscópico da urina e sobre o significado de suas alterações. Nesse importante tratado, Theophilus observou que a urina era um filtrado do sangue e forneceu descrição anatômica de como era produzida. Ele foi capaz de discernir dez tonalidades cromáticas da urina, subdividindo-as em categorias. Além disso, desenvolveu uma série de algoritmos e técnicas, tais como a prática de aquecimento e resfriamento da urina e o exame de urina, usando copos de urina coloridos.

BIBLIOGRAFIA

Amstrong JÁ. Urinalysis in Western culture: A brief history. Kidny International. 2007; 71: 384-387.

Antic T, DeMay R. The fascinating history of urine examination. Journal of the American Society of Cytopathology. 2014; 3:103-107.

Cameron JS. A history of urine microscopy. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 2015; 53(Suppl): S1453-S1464.

Eknoyan G. Looking at the urine: The renaissance of na Unbroken Tradition. American Journal of Kindney Diseases 2007; 49(6): 865-872.

Magiorkinis E, Diamantis A. The fascinating story of urine examination. Diagnostic Cytopathology. 43(12): 1020-1036.

Shamsi M, Hagverdi F, Ashtiyani SC. A brief review of Rhazes, Avicenna, and Jorjani's views on diagnosis of diseases through urine examination. Kidney Diseases Iranian Jurnal of Kidney Diseases. 2104; 8(4): 278-285.

Voswincker P. From uroscopy to urinalysis. Clinica Chimica Acta. 2000; 297: 5-16.

Adenoma hipofisário (prolactinoma) proveniente da disfunção hormonal da prolactina: revisão de literatura

Pituitary adenoma (prolactinoma) from prolactin hormonal dysfunction: literature review

Thalita Vieira Pinto Kuraba[1]

[1] Bacharelado em Biomedicina - (Biomédica). Fundação Hermínio Ometto. Araras, SP.

Resumo

Os adenomas hipofisários são, geralmente, tumores benignos com características de hipersecreção ou hipersecreção hormonal, diagnosticados conforme o crescimento tumoral, síndromes de hiperprodução, deficiência da secreção dos hormônios, alterações visuais e cefaleias. A hiperprolactinemia é a produção excessiva de prolactina (PRL), apresentando níveis elevados de prolactina sérica, o que resulta no aparecimento de adenomas lactotróficos (prolactinomas), predominante em mulheres com idade fértil. O prolactinoma é um adenoma hipofisário secretor de prolactina, classificado como adenoma hipofisário microadenoma, em mulheres, e macroadenoma, em homens. Nas mulheres, o prolactinoma apresenta indícios como galactorreia, amenorreia, disfunção sexual e infertilidade. Em homens, a sintomatologia pauta-se em ganho de peso, disfunção erétil e infertilidade. Os exames laboratoriais, como dosagem de prolactina sérica, e os exames de imagem, principalmente a ressonância magnética (RM), são importantes para confirmar o diagnóstico e a escolha da terapêutica ideal. O tratamento medicamentoso inicial dá-se por drogas agonistas dopaminérgicos (AD), sendo padrão-ouro a cabergolina (CAB), em razão da eficácia e dos efeitos colaterais reduzidos. Quando agonistas dopaminérgicos não surtem efeitos, indica-se submissão a tratamento cirúrgico. Em casos de tumores agressivos ou prolactinomas malignos, indica-se radioterapia. Sendo assim, este artigo corresponde a uma revisão bibliográfica que visa relacionar o adenoma hipofisário (prolactinoma) com a produção excessiva de prolactina (PRL).

Palavras-chave: Galactorreia; Adeno-Hipófise; Hiperprolactinemia

Abstract

Pituitary adenomas are generally benign tumors with characteristics of hypersecretion or hormonal hypersecretion, diagnosed according to tumor growth, hyperproduction syndromes, deficiency in hormone secretion, visual changes and headaches. Hyperprolactinemia is the excessive production of prolactin (PRL), with high levels of serum prolactin, resulting in the appearance of lactotrophic adenomas (prolactinomas), predominant in women of childbearing age. Prolactinoma is a prolactin-secreting pituitary adenoma, classified as pituitary adenoma microadenoma in women and macroadenoma in men. In women, prolactinoma shows signs such as galactorrhea, amenorrhea, sexual dysfunction and infertility. In men, the symptoms are based on weight gain, erectile dysfunction and infertility. Laboratory tests, such as serum prolactin levels, and imaging tests, especially magnetic resonance imaging (MRI), are important to confirm the diagnosis and choose the ideal therapy. The initial drug treatment is done by dopaminergic agonist drugs (AD), with cabergoline (CAB) being the gold standard, due to the reduced efficacy and side effects. When dopaminergic agonists have no effect, submission to surgical treatment is indicated. In cases of aggressive tumors or malignant prolactinomas, radiotherapy is indicated. Thus, this article corresponds to a bibliographic review that aims to relate pituitary adenoma (prolactinoma) with excessive prolactin production (PRL).

Keywords: Galactorrhea; Pituitary Gland, Anterior; Hyperprolactinemia

Correspondência
Thalita Vieira Pinto Kuraba
Fundação Hermínio Ometto
Av. Dr. Maximiliano Baruto, 500 - Jardim Universitário
Araras - São Paulo, CEP: 13607-339
E-mail: thalitavieirap@gmail.com

Recebido em 01/07/2020 | Aprovado em 23/09/2021 | DOI: 10.21877/2448-3877.202102028

1. INTRODUÇÃO

A hipófise, ou pituitária, é a principal glândula endócrina do corpo humano. Situada na base do encéfalo, possui, aproximadamente, o tamanho de um grão de ervilha, e é controlada pelo hipotálamo, que apresenta duas conexões: o sistema porta-hipofisário, que une o hipotálamo à adeno-hipófise (lobo anterior), derivada da bolsa de Rathke, e o trato hipotálamo-hipofisário, que une o hipotálamo à neuro-hipófise (lobo posterior), que se deriva de uma extensão caudal do hipotálamo embrionário.[1]

A adeno-hipófise (lobo anterior) controla a liberação e inibição de hormônios, como: PRL (hormônio prolactina), LH (hormônio luteinizante), FSH (hormônio foliculoestimulante), TSH (hormônio estimulador da tireoide), GH (hormônio do crescimento), ACTH (hormônio adrenocortical) etc.[1]

Esses hormônios estimulam outros órgãos, como por exemplo, os ovários, a adrenal, os testículos, dentre outros, auxiliando na regularização das funções importantes do corpo humano, como no caso da produção de leite no período gestacional, crescimento, manutenção da pressão arterial, proporcionando um equilíbrio metabólico nos processos fisiológico e reprodutivo.[2]

Pode-se dividir a adeno-hipófise em três partes: *pars tuberalis*, *pars intermedia* e *pars distalis*. A *pars tuberalis*, embora não tenha a função endócrina, pode servir de tecido hipofisário funcionante de reserva nos casos de hipofisectomia, e até mesmo servir de local para originar os adenomas hipofisários.[1] A liberação excessiva de hormônios pela hipófise ocasiona uma proliferação anormal celular, conhecida como tumor pituitário ou adenoma hipofisário (AH).[3]

Inicialmente, o diagnóstico do adenoma hipofisário é determinado conforme o crescimento do tumor, síndromes de hiperprodução, deficiência da secreção dos hormônios, alterações visuais e cefaleias. A síndrome de hiperprodução de prolactina (PRL) é denominada hiperprolactinemia, e é considerada uma alteração do eixo hipotálamo-hipofisário, apresentando diferentes etiologias: patológica (adenoma hipofisário), fisiológica (gestação, amamentação e estresse) e farmacológica (medicações com estrogênio, fármacos de ação central).[4,5]

Ressalta-se, contudo, que o adenoma hipofisário proveniente de hiperprolactinemia acomete com maior frequência, geralmente, mulheres entre 20 a 50 anos, havendo ou não a sintomatologia.[5,6]

Sendo assim, o presente artigo tem como foco relacionar o adenoma hipofisário (prolactinoma) com a produção excessiva de prolactina.

2. ADENOMA HIPOFISÁRIO

Os adenomas hipofisários (AH) são tumores benignos, localizados na adeno-hipófise (lobo anterior), decorrente da secreção excessiva de hormônios hipofisários. Estes adenomas estão confinados a uma sela túrcica e ao redor dos vasos sanguíneos, nervos e revestimentos do cérebro, não se disseminam para outras partes do corpo, porém há casos de adenomas invasivos com crescimento acelerado, prejudicando os tecidos adjacentes. Ambos os sexos podem apresentar essa patologia, indiferente da idade, sendo, contudo, mais comum na faixa etária de 20 a 50 anos.[3,5,6]

A patogenia dos adenomas hipofisários segue desconhecida, constituindo o percentual de apenas 5% dos patógenos definidos pelas mutações genéticas. Portanto, a avaliação genética não é necessária para os pacientes com adenomas, com exceção daqueles que apresentam na família o histórico favorável ao surgimento da doença.[7]

A classificação dos adenomas respeita alguns critérios, sendo diversificado em pequenas lesões que não modificam o tamanho da glândula pituitária até tumores que invadem tecidos adjacentes. Basicamente, os critérios da classificação são: produção hormonal (funcionantes, não funcionantes), padrões moleculares, grau de invasão do tumor (microadenoma, macroadenoma), imuno-histoquímica.[5,6]

A produção hormonal classifica o tumor de acordo com sua atividade de secreção hormonal, ou seja, clinicamente o tumor pode corresponder a tumor funcionante (apresenta a atividade hornomal) ou tumor não funcionante (apresenta a atividade hormonal reduzida). Os tumores funcionantes definem as síndromes de hipersecreção hipofisária, que condizem com a acromegalia, hiperprolactinemia, doença de Cushing e outros tumores raros, secretores de TSH e de gonadotrofinas.[8]

Já a classificação por grau de invasão do tumor, ou anatomorradiológica, define como sendo um microadenoma o tumor com diâmetro ≤10mm, ao passo que o macroadenoma corresponde ao tumor com diâmetro >10mm a ≤ 40mm, e, por fim, o adenoma gigante, que é o tumor com diâmetro >40mm.[4,9,10]

A classificação imuno-histoquímica identifica a produção hormonal realizada no citoplasma das células tumorais, esclarecendo a atividade funcional da maior parte dos adenomas.[6]

2.1. Prolactinoma

Os prolactinomas são adenomas hipofisários (AH) ou adenomas lactotróficos secretores de prolactina (PRL). São predominantes no sexo feminino, geralmente na idade fértil. Cerca de 95% dos casos classificados como adenomas hipofisários são microadenomas, que ocorrem em mulheres. No entanto, homens também podem apresentar tais adenomas hipofisários, porém, no sexo masculino, a predominância de adenomas hipofisários são macroadenomas, o que corresponde, aproximadamente, de 80% a 90% dos casos.[5,11]

A síndrome de hiperprodução de prolactina, ou a hiperprolactinemia, é classificada em três categorias: fisiológica (gravidez, amamentação), farmacológica (uso de medicamentos) e patológica (prolactinoma).[4,5,10,12]

Considerado a principal causa de hiperprolactinemia persistente, os prolactinomas se manifestam clinicamente nas mulheres com os sintomas e sinais de galactorreia, irregularidade menstrual, amenorreia, infertilidade, disfunção sexual, ganho de peso e osteoporose. Nos homens, a manifestação clínica se apresenta mediante ganho de peso, disfunção erétil, disfunção sexual, infertilidade, galactorreia e osteoporose.[4,6,11-13]

O tamanho do adenoma lactotrófico está diretamente ligado à quantidade de prolactina secretada, ou seja, quanto maior o adenoma, maior a quantidade de prolactina secretada.

A prolactina é uma hormona com características moleculares e fisiológicas únicas, composta por 199 aminoácidos e peso molecular de 23-kDa.[3] Pertence à família da somatotropina, e devido sua localização e estrutura de seus receptores executa uma determinada função biológica.[2]

A função primária da prolactina, em humanos, contribui para o desenvolvimento e maturação da mama durante a gravidez e prossegue com a produção de leite durante a lactação.[3,12,14]

A secreção da prolactina é controlada pelo tônus inibitório de dopamina hipotalâmica por meio da ligação dos receptores tipo 2 aos neurônios túbero-hipofisário. A dopamina atua inibindo a transcrição e secreção da prolactina, expressão do gene da prolactina, e a proliferação dos lactotróficos. No entanto, pode ser estimulada a secreção de prolactina na inibição da dopamina hipotalâmica (bombesina, colecistocinina, neuropeptídeo, neurotensina, opioides), amamentação e peptídeo intestinal vasoativo.[2]

O receptor da prolactina é denominado receptor de citocinas de classe 1, e através das proteínas transmembranares, de passagem simples, traduzem sinais após a fosforilação por meio das quinases citoplasmáticas. O gene receptor da prolactina situa-se no cromossomo 5p14.3 5p13.2, e integra em 8-9 éxons codificantes e 2 éxons não codificantes.[2]

Para permanecer com os níveis constantes de prolactina, é necessário um fluxo contínuo de dopamina, pois a prolactina atua na síntese, no metabolismo e na secreção da dopamina, que por sua vez age diretamente nos neurônios neuroendócrinos dopaminérgicos, fazendo com que haja, assim, a expressão dos receptores de prolactina. Estes neurônios permitem que a dopamina seja liberada na região perivascular da região eminente média, adentrando, deste modo, nos vasos mais longos e afetados da adeno-hipófise.[3]

Caso os níveis não permaneçam constantes, é possível verificar um aumento na prolactina, resultando na atividade dos neurônios TIDA, ou então a diminuição dos níveis circulantes de prolactina, que resulta no aparecimento da prolactinemia, exceto nos casos de gravidez, lactação ou na presença do prolactinoma.[2]

No ciclo menstrual, a secreção de prolactina permanece estável, com o discreto aumento na fase lútea; já no ritmo circadiano, a prolactina aumenta durante o período de sono noturno e diminui após o despertar.[11]

2.2. Prolactinoma e gravidez

Na gravidez, uma das principais preocupações em relação ao uso de medicamentos agonistas dopaminérgicos (AD) corresponde aos efeitos teratogênicos durante a vida embrionária. Para que não haja nenhuma alteração na estrutura ou função do concepto, indica-se o uso da cabergolina (CAB) em gestantes, sendo o mesmo classificado, por sua vez, na classe B pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Podem ocorrer também casos de crescimento tumoral durante a gravidez, porém 2,4% dos microadenomas possuem um aumento significativo que justifica uma intervenção na gravidez. Já para a gestante com macroprolactinoma clinicamente significativo, em torno de 21%, é sugerida a individualização do tratamento.[3]

No caso de as mulheres com prolactinoma que fazem tratamento com medicamentos agonistas dopaminérgicos vierem a engravidar, é feita, geralmente, a interrupção do uso da medicação, porém a paciente deve ser monitorada a cada trimestre da gravidez.[4,8]. Quando houver o crescimento do tumor após a interrupção da medicação, o tratamento deve ser retomado.[4,8]

Para as mulheres com macroprolactinoma expansivo é indicado o uso de agonista dopaminérgico no período de um ano, para que ocorra a redução do tumor e que permaneça nos limites da sela túrcica antes de engravidar, sendo indicado o

tratamento cirúrgico quando o tratamento medicamentoso não está sendo eficaz.[4,11]

2.3. Prolactinoma e contracepção

As mulheres com prolactinoma que não desejam engravidar podem fazer o uso de contraceptivos à base de estrogênio ou esquemas de estrogênio e progestina. Contudo, tais medidas contraceptivas são contraindicadas nos quadros clínicos de mulheres com macroprolactinoma apresentando a sintomatologia dos efeitos dos tumores capilares em massa, e nesses casos é indicado que a paciente seja submetida a exames de imagens para a confirmação do tumor.[3,7]

3. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico para um possível prolactinoma deve consistir em história clínica, causas fisiológicas e patológicas, em que a paciente é submetida a uma triagem de exames, visando descartar outras possibilidades, como, por exemplo: insuficiência renal, insuficiência hepática crônica, gravidez, hipotireoidismo primário, convulsões e síndrome dos ovários policísticos. Após a confirmação dos resultados dos exames para prolactinoma, a paciente é direcionada para o tratamento correto.[3,10]

De acordo com o protocolo do exame, é preconizada uma única coleta de prolactina sérica, com o objetivo de verificar os níveis de prolactina (PRL).[3]

No surgimento de possíveis dúvidas quanto ao diagnóstico, é necessário que haja a repetição do exame de dosagem de prolactina sérica em outro dia, fazendo, assim, duas coletas com intervalos entre 15 a 20 minutos, de tal forma que evite erros e estresse à secreção pulsátil da prolactina.[10,15]

Podemos encontrar uma possível divergência entre o diagnóstico clínico e o diagnóstico bioquímico, cuja hiperprolactinemia assintomática pode ocorrer devido às altas concentrações de dímeros e polímeros de prolactina, que apresentam baixa bioatividade, fato que corresponde à macroprolactinemia.[8]

Os macroprolactinomas geralmente retratam uma prolactina sérica >400ng/mL, idem apresenta o diagnóstico clínico de déficit visual, dor de cabeça e imagens de crânio hipertensivo.[16]

Pode ocorrer também uma divergência entre o tamanho do tumor e as concentrações de prolactina, havendo uma dissolução secundária ao efeito "Hook" (efeito "gancho"), ou seja, a alta concentração de prolactina permite a capacidade de saturação dos anticorpos nos ensaios imunométricos, nos quais são utilizados métodos que manuseiam duplo anticorpo para a realização da dosagem da prolactina. Desta forma, os níveis de hormônio fornecem o resultado extremamente elevado, podendo ocorrer a perda do segundo anticorpo a qual está vinculada ao excesso de antígeno, gerando um resultado erroneamente baixo (<100ng/mL). Contudo, o efeito "gancho" é solucionado com a pré-diluição do soro ou lavagem depois da incubação com o primeiro anticorpo.[8,15]

Um efeito "gancho" não detectado pode gerar sérias consequências, como, por exemplo, resultar no diagnóstico errado e submeter, desta forma, o paciente com prolactinoma a intervenção cirúrgica desnecessária.[10,12,14]

Existe, também, outro diagnóstico que necessita de atenção especial, pois é considerado como uma armadilha diagnóstica, conhecida no meio de análises clínicas como pseudoprolactinomas.[8]

Os pseudoprolactinomas são tumores não secretores que ocasionam o aumento discreto da secreção de prolactina pela hipófise normal residual pela pressão exercida da haste hipofisária, ou seja, os níveis de prolactina são pouco elevados (<100ng/mL) e diminuem drasticamente depois das doses baixas de medicamentos agonistas dopaminérgicos (AD).[8]

3.1. Diagnóstico clínico

A hipótese diagnóstica deve abranger qualquer paciente que apresente sinais e sintomas provenientes do surgimento de massa na região selar, como anormalidades no campo visual e diminuição da secreção de um ou mais hormônios produzidos pela glândula pituitária.[4,10]

As mulheres apresentam uma queda na produção de estrogênio e progesterona no ovário, resultando na irregularidade menstrual (amenorreia/oligomenorreia), infertilidade, diminuição da libido, dispareunia, osteoporose, acne/hirsutismo e a galactorreia, sendo mais frequente em mulheres na pré-menopausa.[4,10,16]

Os homens apresentam hipogonadismo hipogonadotrófico, manifestado pela diminuição da libido, disfunção erétil, infertilidade.[10,16]

Tanto a ginecomastia (secundária ao hipogonadismo) quanto a galactorreia ocorrem raramente. A osteoporose, anemia e a perda da massa muscular, no entanto, podem aparecer manifestadas como causas secundárias do hipogonadismo.[16]

A testosterona e a dopamina são estimuladores para a interação sexual e dispõem de inibidores de prolactina, compondo-se de seis receptores no cérebro, medula espinhal e pênis. Quando o homem apresenta um quadro de

hipogonadismo hipogonadotrófico ocasionado pela hiperprolactinemia persistente, significa que as respostas sexuais estão sendo inibidas devido ao desequilíbrio da dopamina/serotonina, conhecido como efeito dopaminérgico, o que justifica a inibição do estímulo da testosterona.[10,17]

3.2. Diagnóstico laboratorial

O exame de dosagem de prolactina sérica (PRL) estabelece que a coleta ideal seja feita pelo menos 1 hora após a alimentação e o despertar. O paciente não deverá realizar esforço físico nem manter relações sexuais durante as 24 horas que antecedem o exame, aguardando por 30 minutos antes de realizar a coleta. A coleta deverá ser realizada sem provocar estresse excessivo na punção venosa.[4,16]

O diagnóstico de prolactinoma é fundamentado na presença de prolactina acima de 200ng/mL, considerando macroprolactinomas valores acima de 250ng/mL.[5]

O exame realizado no laboratório verifica a dosagem dos níveis séricos de prolactina, cujo nível sérico normal é inferior a 20ng/mL em homens e a 25ng/mL em mulheres. Os níveis de hiperprolactinemia estão relacionados com sua origem: de origem medicamentosa (estrógenos, medicamentos psicoativos) apresentando nível sérico até 100ng/mL, idiopática e microprolactinomas associados com prolactinoma apresentando nível sérico acima de 200ng/mL.[5]

O resultado de dosagem de prolactina sérica pouco elevada, de 20 ng/mL a 60ng/mL, exige uma confirmação, principalmente quando, clinicamente, não existe uma associação com a hiperprolactinemia laboratorial.[4]

Recomenda-se repetir o exame da dosagem da prolactina sérica após uma diluição de 1:100 em casos de tumores grandes com a hiperprolactinemia leve, e assim pode ser descartado um possível efeito "gancho", bem como a distinção de prolactinomas grandes e adenomas não funcionantes.[15]

3.3. Diagnóstico etiológico

Após a confirmação do paciente com hiperprolactinemia, excluindo as causas secundárias (gestação, amamentação, insuficiência hepática e renal, hipotireoidismo primário, uso de medicamentos), o paciente é submetido a uma ressonância magnética (RM) da hipófise na região selar indicada. Tal exame é solicitado por possuir a capacidade de verificar estruturas no cérebro, devido a sua técnica altamente sensível, apresentando mínimas alterações nas doenças do sistema nervoso central (SNC).[6]

O critério de avaliação do diagnóstico na ressonância magnética se dá através de imagens, de modo a verificar a morfologia das lesões, e o tamanho do tumor e visualizar o quiasma óptico. A ressonância pode detectar uma lesão menor que 1cm, denominada como microprolactinoma, e até mesmo uma lesão maior que 1cm, denominada macroprolactinoma.[6,11]

Existe um questionamento na abordagem diagnóstica com relação à necessidade de uma ressonância magnética contrastante (MRI) com o grau da elevação da prolactina sérica, em que alguns pesquisadores recomendam a avaliação por ressonância magnética apenas quando o nível de prolactina sérica for >100ng/mL, e outros, por sua vez, indicam que seja realizada a ressonância para todos os pacientes com o nível persistentemente elevado de prolactina quando não existir a causa de hiperprolactinemia secundária indetectável.[13]

4. TRATAMENTO

O tratamento nos pacientes com microprolactinoma ou hiperprolactinemia idiopática tem o objetivo de restabelecer os valores normais de prolactina, a fertilidade, reestruturar o trato genital, interromper a galactorreia, controlar e reduzir a massa tumoral.[18]

O grupo de pacientes com microprolactinoma assintomático, ou pós-menopausa, não necessita de tratamento, pois raramente a microprolactina aumenta de tamanho, conforme sugerido pela própria Sociedade Brasileira de Endocrinologia. Porém, alguns autores defendem que o tratamento seja realizado nas mulheres na pós-menopausa, devido ao comprometimento dos ossos, ganhos de peso e a resistência à insulina.[5,11]

Quando o tratamento se refere aos pacientes com macroprolactinoma, o objetivo fundamental consiste em reduzir e controlar o tamanho do tumor.[18]

É possível outro tipo de complicação no tratamento médico, decorrente da sela túrcica vazia, podendo vir a agravar os distúrbios visuais preexistentes, de tal modo que a deficiência visual é ocasionada pela tração do quiasma óptico em direção ao assoalho da sela pela haste hipofisária. A sela túrcica vazia secundária se desenvolve após o tratamento de radioterapia, ou durante o tratamento medicamentoso com agonistas dopaminérgicos.[19]

A diminuição gradual da dose medicamentosa de agonistas dopaminérgicos (AD), junto com a avaliação sistemática do campo visual, é considerada uma tentativa de tratamento médico, cujo objetivo é de recuperar a visão do paciente.[19]

Existem três modelos terapêuticos: medicamentoso, cirúrgico e radioterápico.[15]

4.1. Tratamento medicamentoso

O uso de medicamentos agonistas dopaminérgicos (AD) é considerado padrão-ouro dos prolactinomas, atuando de modo a normalizar os níveis de prolactina (PRL) e reduzindo a massa tumoral em grande número de pacientes[2]. Dentre esses medicamentos, os que se apresentam como sendo os mais eficazes são, por sua vez, a cabergolina (CAB) e a bromocriptina (BRC).[4,11]

A cabergolina, um agonista específico do receptor D2 da dopamina, é o fármaco de primeira escolha em razão de sua maior eficácia e efeito colateral menos frequente. Dispõe do período de meia-vida longa, sendo administrada, semanalmente, com a dosagem de 1mg a 2mg, porém a dosagem na primeira semana de tratamento equivale a 0,25mg. Há casos, no entanto, em que a dosagem ingerida apresenta-se acima de 3mg/semana.[4]

A bromocriptina dispõe do período de meia-vida curto, sendo administrada 2 a 3 vezes ao dia, com a dosagem de 2,5mg a 15mg, não excedendo 7,5mg/dia. Para minimizar os efeitos colaterais, o paciente inicia o tratamento com a dosagem de 1,25mg na primeira semana.[4]

O uso da cabergolina normaliza em 85% dos casos os níveis de prolactina, reduzindo a massa tumoral em 80% dos casos, ao passo que o uso da bromocriptina normaliza em 80% dos casos os níveis de prolactina, em 80% dos casos de microprolactinomas e 70% dos casos de macroprolactinomas.[11]

Os efeitos colaterais são similares entre os medicamentos, porém os sintomas apresentam-se mais frequentes quando utilizada a bromocriptina, fato este que justifica a superioridade de escolha da cabergolina para atuar no tratamento da hiperprolactinemia. Dentre os possíveis sintomas ocasionados pela utilização do medicamento, pode-se citar que o paciente pode vir a apresentar o quadro clínico de cefaleia, náusea, fadiga, vômitos e hipotensão postural.[11]

Ainda é discutido se a cabergolina está associada ao risco de valvulopatia clinicamente significante em pacientes com prolactinoma. Contudo, de acordo com estudos recentes, o uso de medicamentos agonistas dopaminérgicos indica que o risco é significativo em pessoas com a doença de Parkinson, e não apresenta risco significante em pessoas com hiperprolactinemia.[12]

A maioria dos pacientes com prolactinoma responde positivamente à dosagem semanal de 2mg de cabergolina, e apenas uma porcentagem de 15% a 20% dos pacientes exige uma dosagem mais elevada da medicação para atingir a normalidade.[12]

Para verificar se há anormalidades valvulares, é necessária a realização do exame ecocardiograma anual para os pacientes submetidos a doses elevadas do medicamento.[12]

Portanto, a cabergolina, é o medicamento inicial para causa tumoral microprolactinoma e macroprolactinoma e causa idiopática, indicando-se o uso da bromocriptina apenas para mulheres hiperprolactinêmicas com infertilidade e que desejem engravidar.[11]

Embora os medicamentos agonistas dopaminérgicos apresentem um resultado de aceitação favorável, há um grupo de pacientes, de 5% a 10%, que se apresenta resistente a qualquer um desses medicamentos agonistas dopaminérgicos. Assim, os prolactinomas resistentes são aqueles que não atingem concentrações normais de prolactina e que não reduzem de 30% a 50% no tamanho do tumor, mesmo fazendo o uso da medicação em doses máximas toleradas.[15]

4.2. Tratamento cirúrgico

A cirurgia é indicada para pacientes sem normalização dos níveis de prolactina, mesmo fazendo uso de agonistas dopaminérgicos (AD), bem como para pacientes com macroprolactinomas que apresentam deficiência visual e compressão quiasmática sem melhora rápida após o início do tratamento clínico. Desta forma, a cirurgia visa realizar a retirada parcial da massa tumoral, o que pode provocar, posteriormente, uma resposta eficaz no tratamento com fármacos agonistas dopaminérgicos.[4,10,11]

As complicações cirúrgicas mais comuns são, respectivamente, meningite, deficiências hormonais e vazamento de líquido cefalorraquidiano.[9]

4.3. Tratamento radioterápico

A radioterapia é indicada para controlar o crescimento de tumores agressivos ou prolactinomas malignos, que, por sua vez, não responderam de forma positiva à terapêutica dos agonistas dopaminérgicos (AD) e à cirurgia. Os níveis normais de prolactina sérica são atingidos em uma parcela de 31,4% dos casos clínicos.[10]

O tratamento radiológico submete o paciente à radiação, podendo culminar em efeitos colaterais adversos, como, por exemplo, o hipopituitarismo, disfunção neurológica, lesão do nervo óptico, isquemia cerebral e neoplasias secundárias.[10,11]

4.4. Interrupção do tratamento

A Sociedade Brasileira de Endocrinologia recomenda que os pacientes com prolactinoma tratados com medicamentos

agonistas dopaminérgicos (AD), no período menor que dois anos, apresentando níveis normais de prolactina sérica e ausência de um remanescente tumor, podem ter a suspensão do tratamento.[3]

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A hipófise, ou glândula pituitária, é a principal glândula do corpo humano, podendo ser dividida em lobo anterior, ou adeno-hipófise, e lobo posterior, ou neuro-hipófise.

A adeno-hipófise controla a liberação e inibição de vários hormônios, como a prolactina (PRL), que, por sua vez, quando secretada em excesso, causa a hiperprolactinemia de diferentes etiologias, como, por exemplo: patológica (adenomas hipofisários), farmacológica (uso de medicamento com estrogênios) e fisiológica (gestação, amamentação).

O adenoma hipofisário (AH) proveniente da hiperprolactinemia, e denominado prolactinoma, é encontrado, predominantemente, em pacientes do sexo feminino em idade fértil. Dentre os sintomas e sinais apresentados, pode-se citar galactorreia, irregularidade menstrual, amenorreia, infertilidade, disfunção sexual, ganho de peso e osteoporose.

A secreção da prolactina é controlada pelo tônus inibitório de dopamina hipotalâmica, que atua inibindo a transcrição e secreção da prolactina.

O prolactinoma apresenta um crescimento lento, com manifestações tardias e diversificadas, dificultando o diagnóstico da doença. Os exames laboratoriais, que consistem na dosagem do hormônio, e os exames de imagem, como ressonância magnética e tomografia computadorizada, bem como as condições clínicas apresentadas pelo paciente, são fundamentais para confirmação do diagnóstico de prolactinoma.

O modelo terapêutico para prolactinoma tem o objetivo de restabelecer a fertilidade, reestruturar o trato genital, interromper a galactorreia, controlar e reduzir a massa tumoral.

Os tratamentos podem ser medicamentosos, cirúrgicos e radioterápicos, sendo escolhido o meio mais eficaz, de acordo com o quadro clínico da paciente em questão.

O tratamento medicamentoso é realizado à base de agonista dopaminérgico, tendo como padrão-ouro a cabergolina (CAB), visto que corresponde a um medicamento eficaz para tratar esse tipo de tumor, além de apresentar efeitos colaterais reduzidos ao paciente.

Para os pacientes que, por algum motivo, não apresentam normalização dos níveis de prolactina, mesmo fazendo uso de agonista dopaminérgico, o tratamento indicado é que se recorra à cirurgia para a retirada parcial da massa tumoral.

E, por fim, o tratamento radioativo, ou a radioterapia, é indicado para os pacientes que apresentam tumores agressivos ou prolactinomas malignos. É válido ressaltar que esse tipo de tratamento, por sua vez, culmina na exposição do paciente a possíveis efeitos colaterais adversos, como, por exemplo, o hipopituitarismo e a isquemia cerebral.

6. REFERÊNCIAS

1. Drummond JB, Martins JCT, Soares MMS, Pimentel Dias EP. Alterações da haste hipofisária e suas implicações clínicas. Arq Bras Endocrinol Metab. 2003 Aug;47(4):458-66. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/abem/v47n4/a18v47n4.pdf
2. Guelho D, Gomes L, Paiva I, Carrilho F. Prolactina e metabolismo – uma perspectiva diferente de uma hormona multifuncional. Rev Port Endocrinol Diabetes Metab. 2016 May;11(2):268–76. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1646343916000195
3. Melgar V, Espinosa E, Sosa E, et al. Diagnóstico y tratamiento actual de la hiperprolactinemia. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2016;54(1):110-21. Disponível em: https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2016/im161w.pdf
4. Ministério da Saúde (Brasil). Portaria no. 1160, de 18 de novembro de 2015. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas da hiperprolactinemia. Diário Oficial da União 26 abril 2010; seção 1. Disponível em: https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/fevereiro/04/Hipeprolactinemia---PCDT-Formatado--.pdf
5. Santos HF, Lourenço IA, Safad GMVV, Nogueira LR. Disfunção do hormônio hipofisário prolactina, que leva ao desenvolvimento do adenoma hipofisário (prolactinoma) e peculiaridades do tratamento. Infarma. 2008;20(3,4):7-9. Disponível em: http://revistas.cff.org.br/?journal=infarma&page=article&op=viewFile&path[]=387&path[]=376
6. Mendes BB, Bastos LG, Ccarneiro CC. Adenoma hipofisário: correlação clínica, laboratorial e radiológica. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações. 2015 Jul;13(1):256-69. Disponível em: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5106752
7. Mark E, Molitch MD. Diagnosis and treatment of pituitary adenomas: a review. The Journal of the American Medical Association. 2017 Feb;7;317(5):516-24. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28170483/
8. Freire DS. Tumores e nódulos hipofisários. Medicinanet, 2009. Disponível em:http://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/1889/tumores_e_nodulos_hipofisarios.htm
9. Song SH, Lee J, Kim DS. Macroprolactinoma in a young man presenting with erectile dysfunction. Clinical and Experimental Reproductive Medicine. 2019 Dec;46(4):202–5. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6919204/
10. Gil MSM, Manavela M, Alfieri A, Ballarino MC, Chervin A, Danilowicz K, et al. Prolactinomas: evolution after menopause. Arch Endocrinol Metab. 2016;60(1):42-6. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/aem/v60n1/0004-2730-aem-60-1-0042.pdf
11. Glezer A, Bronstein MD. Prolactinoma. Arq Bras Endocrinol Metab. 2014 Mar;58(2):118-23. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/abem/v58n2/0004-2730-abem-58-2-0118.pdf
12. Gonzaga MFM. Prolactinomas resistentes aos agonistas da dopamina: estudo de série de casos. Brasília. Tese [Mestre em Ciências da Saúde] – Universidade de Brasília UnB; 2016. Disponível em: https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/22194/1/2016_MariadeF%c3%a1timadeMagalh%c3%a3esGonzaga.pdf

13. Clavijo CAL, Maya JEG, Flórez REH, Gutiérrez DLP. Características clínicas y presencia de prolactinoma en mujeres con hiperprolactinemia. Iatreia. 2016 Jul;29(3):292-300. Disponível em: http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v29n3/0121-0793-iat-29-03-00292.pdf
14. Vilar L, Fleseriu M, Bronstein MD. Challenges and pitfalls in the diagnosis of hyperprolactinemia. Arq Bras Endocrinol Metab. 2014;58(1):9-22. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/abem/v58n1/0004-2730-abem-58-1-0009.pdf
15. Aguirre MA, Luna M, Reyes Y, Zerpa Y, Vielma M. Diagnóstico e tratamento da hiperprolactinemia. Rev Venez Endocrinol Metab. 2013 Feb;11(1):26-38. Disponível em: http://ve.scielo.org/pdf/rvdem/v11n1/art05.pdf
16. Samperi I, Lithgow K, Karavitak N. Hyperprolactinaemia. Jornal Clinical Medicine. 2019 Dec;8(12):2203. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6947286/
17. Devoto EC, Aravena LC. Hiperprolactinemia y disfunción sexual en el varón. Rev. Chil. Endocrinol. Diabetes 2015;8(1):25-31. Disponível em: http://www.revistasoched.cl/1_2015/4.pdf
18. Nunes VS, Vicentini HC, Padovani CR, Nogueira CR, Vilar L. Electronic survey of management of hyperprolactinemia in Brazil: Endocrinologists versus gynecologists. Rev Argent Endocrinol Metab. 2017 Jul;54(3):124–9. Disponível em: http://www.scielo.org.ar/pdf/raem/v54n3/v54n3a03.pdf
19. Berriel MRS, Lima GAB, Melo ASA, Santos MLV, Rahhal H, Taboada GF. Prolactinomas may have unusual presentations resulting from massive extrasellar tumor extension. Arq Neuropsiquiatr. 2016 May;74(7):544-8. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/anp/v74n7/0004-282X-anp-74-07-0544.pdf
20. Prabhu S. Pituitary adenomas: what are the key features? What are the current treatments? Where is the future taking us?. World Neurosurg. 2019 Jul;127:695-709. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878875019306813

Os principais erros da fase pré-analítica de exames laboratoriais

The main errors of the pre-analytical phase of laboratory exams

Raquel Gomes de Assis Molina de Oliveira[1], *Giselle Aparecida Fagundes Silva*[2]

[1] Biomédica / Universidade do Grande Rio. Duque de Caxias, RJ, Brasil.

[2] Doutorado/ Universidade do Grande Rio. Duque de Caxias, RJ, Brasil.

Resumo

As análises clínicas laboratoriais possuem papel fundamental na saúde, pois é através de seus resultados que 70% dos diagnósticos são concluídos pelos médicos, e desta forma é necessário que se preze pela emissão de resultados confiáveis. Entretanto, uma das fases do processo de realização dos exames laboratoriais tem se destacado como a fase que concentra o maior percentual de erros no âmbito laboratorial até os dias atuais. Trata-se da fase pré-analítica, que se inicia com a solicitação do exame e finaliza quando se inicia a análise. Os erros pré-analíticos podem ser responsáveis por até 75% dos erros laboratoriais, o que mostra a vulnerabilidade desta fase. Portanto, este trabalho tem como objetivo identificar os principais erros que estão vinculados à fase pré-analítica, assim como os impactos que esses erros podem causar. Os tipos de erros pré-analíticos foram revisados na literatura entre os anos de 2011 a 2020. Os resultados apontaram que os principais erros pré-analíticos estão associados ao momento da coleta de amostras biológicas. Isto mostra a necessidade de gerar melhorias nos setores de coleta, através da realização de treinamentos voltados para as equipes de flebotomia, com o intuito de aperfeiçoar este processo e diminuir as taxas dos erros provocados nesta fase.

Palavras-chave: Diagnóstico; Fase Pré-Analítica; Patologia Clínica

Abstract

The clinical laboratory analyses have a fundamental role in health, because it is through their results that 70% of the diagnoses are concluded by the doctors, therefore, it is necessary to give priority to the issuance of reliable and safe results. However, one of the phases of the process of performing laboratory tests has been highlighted as the phase that concentrates the highest percentage of errors in the laboratory environment until the present day. It is the pre-analytical phase, which begins with the request of the exam and ends when the analysis begins.The pre-analytical errors can be responsible for up to 75% of laboratory errors, which shows the vulnerability of this phase. Therefore, this work aims to identify the main errors that are linked to the pre-analytical phase, as well as the impacts that these errors may cause. The types of pre-analytical errors were reviewed in the literature between 2011 and 2020. The results showed that the main pre-analytical errors are associated with the time of collection of biological samples. This shows the need to generate improvements in the collection sectors, through training for phlebotomy teams, in order to improve this process and decrease the rates of errors caused in this phase.

Keywords: Diagnosis; Pre-Analytical Phase; Pathology, Clinical

Correspondência
Giselle Aparecida Fagundes Silva
Universidade do Grande Rio
Rua Prof. José de Souza Herdy, 1.160 - Jardim 25 de Agosto
Duque de Caxias - Rio de Janeiro
E-mail: giselle.fagundes@unigranrio.edu.br

Recebido em 22/12/2020 | Aprovado em 17/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202089

INTRODUÇÃO

A medicina laboratorial desempenha um papel de suma importância na área da saúde, onde disponibilizam serviços de análises, estudos de materiais biológicos e diversas outras atividades voltadas para a realização de exames complementares, que possuem finalidades diagnósticas, prognósticas, de prevenção e acompanhamento terapêutico, de forma que os resultados fornecidos através deles detêm uma grande influência em relação às decisões clínicas na assistência à saúde.[1]

Aproximadamente 70% dos diagnósticos são concluídos com base nos resultados das análises laboratoriais. Desta forma, é necessário que a medicina diagnóstica preze pela emissão de resultados confiáveis, gerando assim um serviço de saúde eficaz e seguro ao médico e ao paciente, pois além do diagnóstico influenciaria também as decisões médicas quanto à escolha de melhores estratégias terapêuticas e cuidados clínicos, como prescrição de medicamentos, internação, alta hospitalar, entre outras decisões assistenciais.[2-4]

Logo, os laboratórios clínicos possuem uma grande responsabilidade em relação às suas funções, constituindo inúmeras etapas que vão desde o cadastramento do paciente até a emissão e entrega dos laudos, que devem ser realizados com precisão para que se obtenham resultados coerentes e fidedignos, sendo estes condizentes com a realidade clínica do paciente. Isso é necessário e de extrema importância para que o médico possa se basear em seus resultados, a fim de que haja a correta e a melhor tomada de decisão clínica em relação ao paciente.[5]

Fases de realização das análises laboratoriais

A realização de exames e testes dentro de um laboratório está dividida em três fases fundamentais, sendo elas: fase pré-analítica, analítica e pós-analítica. A fase pré-analítica envolve a indicação e solicitação do exame, cadastro do paciente, transmissão correta das instruções de preparo ao paciente (que são específicas para cada tipo de exame), coleta, identificação, armazenamento, acondicionamento, transporte, recebimento e análise dos padrões de aceitação e rejeição das amostras biológicas. Desta forma a fase pré-analítica une todas as etapas necessárias que antecedem a fase analítica.[6]

A fase analítica consiste na operação de variados métodos para realização da análise do material biológico. Nesta fase são utilizados diversos equipamentos que irão auxiliar e executar as análises dos ensaios, por isso ela se torna uma fase mais automatizada, que requer um controle de qualidade e calibração de equipamentos, assim como a preservação dos reagentes utilizados nestes, a fim de se obter resultados precisos dos analitos.[7]

E, por fim, a fase pós-analítica, que se inicia a partir da obtenção dos resultados quantitativos e qualitativos das análises das amostras biológicas, que dará origem à liberação do laudo, seguida pela avaliação do médico, que irá emitir o diagnóstico e tomar as decisões necessárias mediante aos resultados que foram estabelecidos.[8]

Contudo, existe a possibilidade de ocorrerem erros durante a execução destas fases, que podem afetar os seus resultados. A Figura 1 mostra as frequências dos erros nas três fases citadas anteriormente, segundo o estudo de Ambachew et al.[9] Nesta, é possível observar que 68% dos erros laboratoriais ocorrem na fase pré-analítica. Estes dados revelam a importância de se enfatizar a fase pré-analítica, já que esta tem se destacado e tem sido apontada em várias pesquisas pela sua concentração de altas taxas de erros laboratoriais. Isto porque um dos motivos é o fato de os laboratórios não conseguirem ter um controle sobre algumas das atividades ali executadas, e é sobre ela que irá se tratar este estudo.[4,9,10]

Fatores que influenciam os erros

Existem muitas pessoas envolvidas na realização da fase pré-analítica: paciente, médico, flebotomista e demais profissionais encarregados do armazenamento, transporte do material biológico e cadastramento do paciente. A ação destes dificulta a administração do laboratório em relação às atividades executadas, justamente por causa do elevado número de pessoas com diferentes graus de formação na área de saúde, ligados a realização das etapas desta fase.[5]

Um ponto que contribui para que haja essa grande quantidade de profissionais associados à fase pré-analítica está relacionado ao fato de a maioria dos processos não

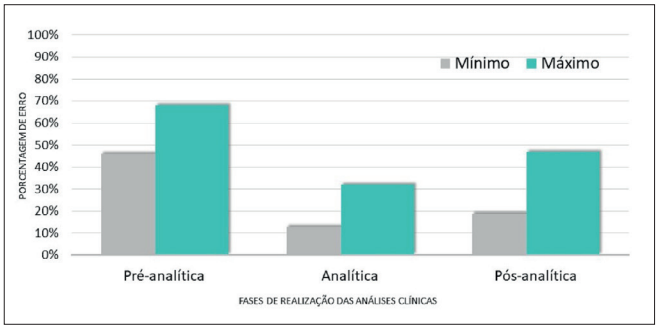


Figura 1

Comparação das porcentagens de erros entre as fases de realização das análises laboratoriais.

Fonte: Ambachew et al., 2018[9]

serem automatizados, como na fase analítica, o que torna essa fase mais vulnerável, pois quanto maior o número de pessoas envolvidas em um processo, maiores são as probabilidades de erros. Esta situação pode ser ainda mais difícil de controlar quando estas etapas são realizadas fora do ambiente laboratorial.[8]

Os termos "fase pré-pré-analítica e fase pós-pós-analítica" têm sido utilizados para designar as etapas de realização de exames que não dependem do laboratório, como por exemplo: a decisão médica sobre a escolha dos exames que são mais indicados mediante uma hipótese diagnóstica e a prescrição destes, o preparo do paciente para determinado exame, coleta, identificação das amostras, preservação, transporte e recepção do material biológico na fase pré-pré-analítica, e a interpretação do laudo feita pelo médico na fase pós-pós-analítica.[11]

As variáveis pré-analíticas têm grande impacto sobre os resultados dos exames laboratoriais, que podem promover interpretações errôneas. Por isso, informações relevantes sobre o paciente, como idade, gênero, variação cronobiológica, jejum, prática de atividades físicas, uso de medicamentos, tabagismo, etilismo, gestação, doenças ou lesões preexistentes, deverão ser consideradas, pois podem influenciar e comprometer os resultados dos exames, fazendo-se necessário o conhecimento destes dados na fase pré-analítica e pós-analítica, para avaliação dos resultados que forem obtidos.[12]

Desta forma, as altas taxas de erros pré-analíticos estão associadas à complexidade dos processos envolvidos, à limitada automação e padronização dos serviços e à participação de diversas pessoas na fase pré-analítica, tornando-a vulnerável e gerando não conformidades nos processos desta etapa. A não conformidade é a ocorrência de um procedimento não padronizado, ou seja, é o não cumprimento de um requisito, que pode levar a resultados enganosos, por isso cada laboratório desenvolve métodos próprios para lidar com estes obstáculos.[10]

Um erro pode provocar falsos positivos ou falsos negativos e interferir na decisão médica quanto ao quadro clínico e diagnóstico do paciente, que eventualmente em alguns casos terá que refazer o exame, gerando assim gastos e atrasos no diagnóstico ou até mesmo danos à saúde do paciente.[13]

Os laboratórios clínicos e sua equipe multidisciplinar necessitam seguir as normas, regulamentações e as recomendações das boas práticas laboratoriais, a fim de minimizar ou evitar possíveis erros, e não influenciar de alguma maneira os resultados dos exames. Além disso, fazer a adoção de programas de gestão da qualidade através dos indicadores de qualidade é de extrema importância, pois estes irão realizar um mapeamento dos processos laboratoriais para identificar, qualificar e quantificar falhas que possam existir, permitindo assim que medidas de prevenção e correção sejam colocadas em prática.[11]

De igual modo, a busca pela acreditação e certificação de um laboratório é primordial para promover segurança, responsabilidade, ética profissional, eficiência e oferecer serviços de alta qualidade. Colocar em prática este processo irá viabilizar a padronização das atividades realizadas no âmbito laboratorial e gerar a busca pela melhoria contínua dos serviços de saúde.[14]

O alto percentual de erros cometidos na fase pré-analítica destaca-se quando comparado com os percentuais de erros das outras duas fases de realização de exames laboratoriais. Além disso, um pequeno erro cometido nesta fase é crucial para comprometer as próximas etapas e principalmente os resultados dos exames.[6]

Desta forma, estas foram as questões motivadoras para a criação deste trabalho, pois é necessário primeiramente conhecer os erros e suas origens, para então possibilitar o desenvolvimento de soluções, a fim de reduzir a taxa de ocorrência desses erros e desta forma melhorar a qualidade dos serviços laboratoriais.

Portanto, o presente estudo tem como objetivo identificar os principais erros que estão vinculados à fase pré-analítica, assim como os impactos que esses erros podem causar, baseando-se na literatura científica. O intuito é mostrar a relevância deste assunto e as questões preponderantes que devem ser evitadas durante uma rotina laboratorial, podendo este ser usado eventualmente como fonte de dados para estudantes ou profissionais da área da saúde, a fim de gerar discussões, estudos, levantamento de dados, busca por soluções e principalmente reavaliação das condutas durante a realização dos ensaios.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a elaboração desta revisão de literatura, foram utilizados como base artigos científicos obtidos através dos bancos de dados eletrônicos e revistas científicas, sendo estes: PubMed (que utiliza artigos fornecidos pelo MEDLINE), Scientific Electronic Library Online (SciELO), Scientific Electronic Library Online Saúde Pública (SciELOSP), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), ScienceDirect (Elsevier), Google Acadêmico e a Revista Brasileira de Análises Clínicas (RBAC). As palavras-chaves utilizadas na busca dos

artigos nestes bancos de dados são: fase pré-analítica, erros pré-analíticos, erro laboratorial e análises clínicas.

Durante a pesquisa, foram selecionados artigos publicados nos idiomas português, inglês ou espanhol, entre o período de 2011 a 2020, com base no título e na leitura do resumo. Após o levantamento bibliográfico, cerca de 80 artigos foram coletados, e deste total 29 estudos foram selecionados para embasar o presente trabalho. As tabelas e figuras presentes nesta revisão foram desenvolvidas nos programas do Microsoft Excel e do Microsoft Word, utilizados para compilar os dados com base na literatura, reunindo apenas informações relevantes e inerentes ao objetivo deste estudo.

RESULTADOS

O baixo desempenho laboratorial pode causar erros, e consequentemente o aumento dos custos de assistência médica, atrasos no diagnóstico e tratamento, ou até mesmo diagnóstico incorreto e tratamento inadequado e, com isso, a diminuição da satisfação do paciente. Os erros podem ocorrer em qualquer parte do processo, todavia, a fase pré-analítica tem apresentado altos índices de erros, destacando-se quando comparada às outras duas fases do processo de realização dos testes. O impacto causado pelo erro pré-analítico pode gerar danos como os citados anteriormente, assim como a rejeição de amostras que leva à realização de novas coletas.[9]

Um dado importante é relatado no estudo de Fernandes e Oliveira,[6] onde a pesquisa foi realizada em um laboratório privado na cidade de Maringá-PR, Brasil, que mostrou que 1.274 testes laboratoriais receberam novas ordens de coleta, devido a erros laboratoriais que provocaram a rejeição das amostras biológicas. Com isso, a fase pré-analítica está representando a maior taxa de pedidos de nova coleta (70,8%), seguida pela fase pós-analítica (27,79%) e por fim a fase analítica com uma pequena taxa (1,41%), conforme mostra a Figura 2.[6]

Há pouco tempo, um estudo prospectivo desenvolvido por Ashakiran et al.[15] já demonstrava que a fase pré-analítica é responsável pela maior parte dos erros registrados, já que estes atingiram uma margem de 44,7% de erros pré-analíticos por dia. No estudo, foram monitorados a frequência e os tipos de erros, através da análise das amostras de sangue venoso. A Tabela 1 mostra os erros pré-analíticos que foram documentados e sua distribuição percentual no período de três meses do estudo.[15]

Ratificando o estudo de Ashakiran et al.,[15] Guimarães et al. [16] avaliaram os dados obtidos através da análise de rejeição de amostras de sangue, assim como as solicitações de novas coletas de sangue diárias, no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. O estudo mostrou que do total de 77.051 amostras de sangue, 441 (0,57%) amostras foram rejeitadas por serem consideradas como inadequadas para a realização de exames, por possuir algum tipo de erro pré-analítico. A Tabela 2 mostra os motivos que levaram a rejeição das amostras, assim como as frequências de suas ocorrências. Amostras coaguladas e hemolisadas, juntamente com volume insuficiente de amostra foram as causas mais frequentes na rejeição dos espécimes.[16]

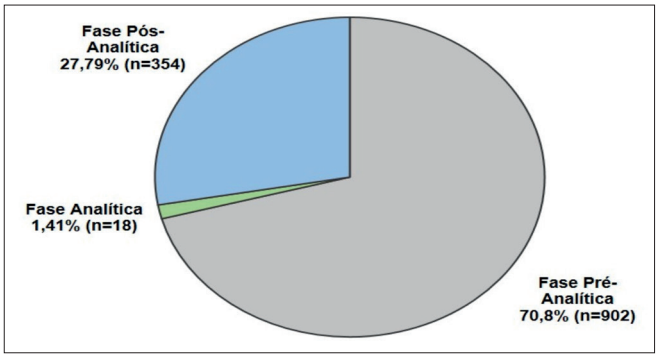


Figura 2

Comparação entre as fases de realização de exames em relação às taxas de novas ordens de coleta.

Fonte: Adaptado de Fernandes e Oliveira, 2016[6]

Tabela 1

Erros pré-analíticos por Ashakiran et al. (2011) após três meses de estudo

Erros pré-analíticos	Frequência de Dez/2009 a Fev/2010 (n)
Erros que ocorrem no nível de identificação do paciente	
Solicitação inadequada	28,8 (51)
Identificação incorreta	2,8 (5)
Erros que ocorrem no nível da coleta da amostra	
Tempo inadequado da amostra	20,9 (37)
Amostra insuficiente	7,3 (13)
Coleta inadequada de tubos	15,3 (27)
Erros que ocorrem durante o transporte da amostra	
Atraso no manuseio e transporte da amostra	5,6 (10)
Hemólise *in vitro*	19,2 (34)
Total	100 (177)

Fonte: Ashakiran et al., 2011[15]

Tabela 2

Erros pré-analíticos por Guimarães et al. (2012) após três meses de estudo

Erros pré-analíticos	Frequência de Jun/2010 a Ago/2010 (n)
Amostra coagulada	43,8 (193)
Volume insuficiente de amostra	24 (106)
Amostra hemolisada	17,9 (79)
Erro na identificação da amostra	4,3 (19)
Erro na escolha do tubo/aditivo	1,8 (8)
Amostra lipêmica	0.9 (4)
Razão amostra/aditivo inadequado	0,7 (3)
Amostra com icterícia	0,7 (3)
Outras causas de rejeição	5,9 (26)
Total	100 (441)

Fonte: Guimarães et al., 2012[16]

Corroborando as informações já mencionadas, Fernandes e Oliveira[6] demonstraram em seu estudo, realizado em um laboratório de análises clínicas na cidade de Maringá-PR, Brasil, em que os dados foram obtidos através do relatório de coleta de dados do controle de qualidade e dos formulários de não conformidades do próprio laboratório, que do total de 707.449 testes realizados em amostras de pacientes 1.274 testes obtiveram uma nova ordem de coleta por estarem impróprios para a realização de exames, 902 (70,8%) destas amostras haviam sido rejeitadas em virtude de erros cometidos na fase pré-analítica. O volume insuficiente de amostra, amostra coagulada e amostra hemolisada foram os erros que se destacaram neste estudo, como mostra a Tabela 3.[6]

Tabela 3

Erros pré-analíticos por Fernandes e Oliveira (2016) após dois anos de estudo

Erros pré-analíticos	Frequência de Jun/2013 a Mai/2015 (n)
Amostra coagulada	19,29 (174)
Amostra hemolisada	9,43 (85)
Amostra lipêmica	3 (27)
Rotulagem incorreta da amostra	8,21 (74)
Amostra inadequada	1,56 (14)
Volume insuficiente da amostra	58,54 (528)
Total	100 (902)

Fonte: Fernandes e Oliveira, 2016[6]

Durante o período de realização de um estudo executado por Tapper et al. (2017),[17] após avaliar os erros pré-analíticos encontrados no registro de rejeição de amostras do laboratório observou-se que 1.390 amostras foram rejeitadas devido a erros provocados na fase pré-analítica, porém as informações sobre o número total de amostras recebidas pelo laboratório não foram relatadas. Amostras não identificadas, amostras rotuladas incorretamente, tubos inadequados de coleta para o teste solicitado, assim como o preenchimento incompleto ou impreciso do formulário de requisição representaram a maioria dos erros pré-analíticos registrados, como demonstrado na Tabela 4.[17]

Um estudo elaborado recentemente por Kadić et al.[18] analisou os dados de amostras de sangue rejeitadas de acordo com os registros do sistema de informação laboratorial, demonstrando que do total de 35.343 amostras, 602 (1,70%) foram rejeitadas por erros cometidos na fase pré-analítica. Os erros que apresentaram uma maior frequência foram amostras hemolisadas, amostras coaguladas e volume inadequado de amostra, conforme mostra a Tabela 5.[18]

Tabela 4

Erros pré-analíticos por Tapper et al. (2017) após quatro anos de estudo

Erros pré-analíticos	Frequência de Jun/2012 a Mai/2016 (n)
Amostra Inadequada	
Rotulagem incorreta da amostra	23 (326)
Não etiquetada	37 (513)
Amostra hemolisada	3,3 (46)
Amostra inadequada para análise	2,0 (29)
Amostra antiga	0,2 (4)
Formulário de requisição inadequado	
Informações incompletas/imprecisas	14 (194)
Nenhum teste solicitado	0,3 (5)
Manchado de sangue	0,5 (7)
Volume inadequado	
Amostra vazada em trânsito	0,9 (13)
Amostra quebrada em trânsito	1,0 (14)
Nenhuma amostra recebida	0,5 (8)
Quantidade insuficiente	1,2 (18)
Amostra quebrada/derramada em laboratório	1,3 (19)
Tubo inadequado	
Amostra incorreta para teste	14 (194)
Total	100 (1.390)

Fonte: Tapper et al., 2017[17]

Tabela 5

Erros pré-analíticos por Kadić et al. (2019) após três meses de estudo

Erros pré-analíticos	Frequência de Dez/2016 a Mar/2017 (n)
Hemólise	48,50 (292)
Amostra coagulada	39,87 (240)
Volume de amostra inadequado	7,81 (47)
Tubo de coleta inadequado	2,16 (13)
Erro de identificação	1,66 (10)
Total	100 (602)

Fonte: Kadić et al., 2019[18]

E por fim, Dhotre et al.[19] atualmente desenvolveram um estudo em um período de 12 meses, contendo duas fases de pesquisa: uma antes do treinamento da equipe de flebotomistas do laboratório e a outra após o treinamento, contendo seis meses cada fase.[19]

De acordo com os autores, amostras foram rejeitadas pela equipe do laboratório de acordo com os seus procedimentos operacionais padrão, que foram devidamente anotados no livro de registro de amostras rejeitadas, onde obteve um total de 980 erros pré-analíticos, dos quais 740 erros ocorreram na primeira fase do estudo e 240 erros na segunda fase. O número total de amostras recebidas pelo laboratório não foi relatado pelo autor. Amostra hemolisada, amostra lipêmica e quantidade de amostra insuficiente estão entre os erros que mais se destacaram, de acordo com a Tabela 6, que mostra os resultados baseados na primeira fase do estudo.[19]

Na segunda fase do estudo foram observados os mesmos erros descritos na primeira fase (Tabela 6), porém não houve diferença significativa nas proporções dos diferentes tipos de erros entre as duas fases do estudo.[19]

Desta forma, o presente trabalho reuniu os principais erros pré-analíticos com base nos registros dos estudos aqui citados, a partir de uma análise feita em seus dados. A Tabela 7 apresenta os percentuais dos erros pré-analíticos mais frequentes entre os estudos avaliados, ou seja, aqueles relatados em pelo menos 50% destes.

A Figura 3 nos mostra a distribuição da frequência dos erros pré-analíticos conforme os dados da Tabela 7, fazendo uma comparação da porcentagem destes erros encontrados em cada estudo com outra perspectiva.

Tabela 6

Erros pré-analíticos por Dhotre et al. (2020) após seis meses de estudo

Erros pré-analíticos	Frequência de Jan/2019 a Jun/2019 (n)
Amostras hemolisadas	36,6 (271)
Amostras lipêmicas	19,9 (147)
Quantidade inadequada de amostra	18,8 (139)
Atraso no transporte da amostra	13,4 (99)
Coleta de amostra em tubo errado	11,4 (84)
Total	740 (100)

Fonte: Dhotre et al., 2020[19]

Tabela 7

Erros pré-analíticos com maior reincidência entre os estudos

Autor/ano	ASHAKIRAN, SUMATI & MURTHY, 2011	GUIMARÃES et al., 2012	FERNANDES & OLIVEIRA, 2016	TAPPER et al., 2017	KADIĆ, AVDAGIĆ-ISMIĆ & HASIĆ, 2019	DHOTRE, DHOTRE & SHAIKH, 2020
Período de obtenção dos dados	3 meses	3 meses	2 anos	4 anos	3 meses	6 meses
	Erros pré-analíticos Frequência (%)					
Identificação incorreta da amostra	2,8	4,3	8,21	23	1,66	*
Volume inadequado de amostra	7,3	24	58,54	5,1	7,81	18,8
Amostra hemolisada	19,2	17,9	9,43	3,3	48,50	36,6
Tubo de coleta inadequado	15,3	1,8	*	14	2,16	11,4
Amostra coagulada	*	43,8	19,29	*	39,87	*
Amostra lipêmica	*	0,9	3	*	*	19,9

Legenda:(*) representa a ausência do erro pré-analítico no estudo.

Fonte: Ashakiran et al., 2011[15]; Guimarães et al., 2012[16]; Fernandes e Oliveira, 2016[6]; Tapper et al., 2017[17]; Kadić et al., 2019[18]; Dhotre et al., 2020[19]

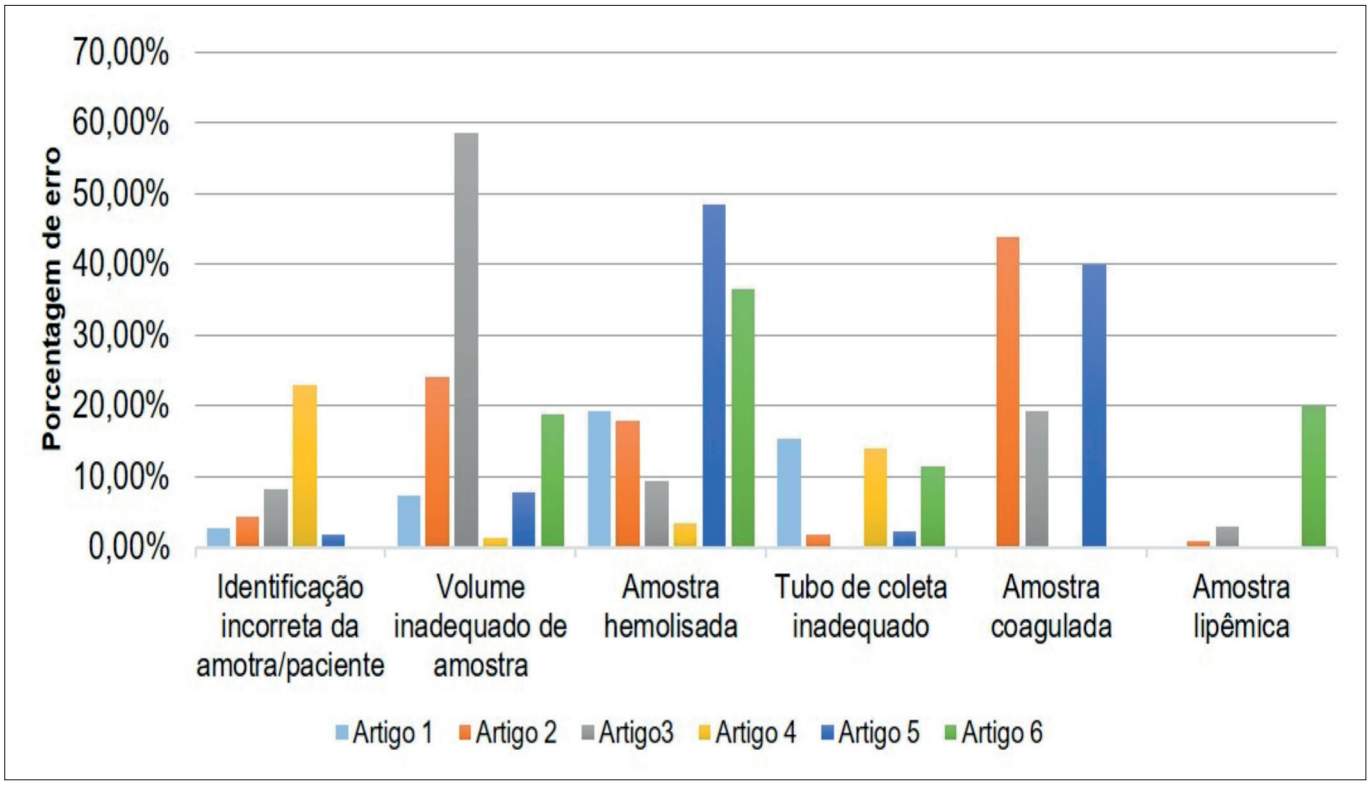


Figura 3

Porcentagem dos principais erros pré-analíticos

Legenda: Artigo 1 - Ashakiran *et al*. (2011); Artigo 2 - Guimarães *et al*. (2012); Artigo 3 - Fernandes e Oliveira (2016); Artigo 4 - Tapper *et al*. (2017); Artigo 5 - Kadić *et al*. (2019); Artigo 6 - Dhotre *et al*. (2020).

Fonte: Ashakiran *et al*., 2011[15]; Guimarães *et al*., 2012[16]; Fernandes e Oliveira, 2016[6]; Tapper *et al*., 2017[17]; Kadić *et al*., 2019[18]; Dhotre *et al*., 2020[19]

Nota-se que os erros referentes a volume inadequado de amostra, amostra hemolisada e amostra coagulada atingiram uma maior taxa quando comparados aos demais erros. De todos os outros erros pré-analíticos que foram relatados nos seis estudos, a amostra hemolisada se destacou em cinco estudos por estar entre os que atingiram as maiores porcentagens de erros pré-analíticos, assim como o volume inadequado de amostra que se destacou em quatro estudos, e a amostra coagulada que também se evidenciou em três estudos.[6,15,16,18,19]

Em suma, os resultados laboratoriais precisos são essenciais para o diagnóstico médico e atendimento ao paciente, visto que grande parte dos diagnósticos é concluída com base nos resultados dos exames. No entanto, mediante o exposto em relação às altas taxas de erros pré-analíticos que são encontrados até os dias atuais, a grande questão é: até que ponto esses erros podem impactar os resultados dos exames laboratoriais e, consequentemente, a saúde do paciente?[19]

DISCUSSÃO

O estudo de Salinas et al.[20] afirma que é na fase pré-analítica que se concentra o maior percentual de erros relacionados aos exames laboratoriais. O autor também aponta que em diferentes trabalhos as frequências desses erros podem atingir entre 31,6%, 44% e 53%, podendo chegar até 75%, onde esses dados se mostram compatíveis com os números relatados no presente estudo. Segundo o autor, estas distinções se dão por causa dos diferentes critérios de avaliação ou pelo aumento das variáveis do estudo.[20]

Vieira et al.[11] também fazem uma comparação em relação às porcentagens de erros entres as três fases de realização das análises clínicas laboratoriais, e apontam que de 46% a 68% dos erros estão relacionados à fase pré-analítica, 12,5% dos erros estão ligados à fase analítica e que, por fim, de 18% a 47% dos erros são provocados na fase

pós-analítica, similarmente com os dados apresentados na Figura 1 e na Figura 2.[11]

Porém as taxas dos erros pré-analíticos apresentam variações quando comparadas entre os estudos que foram mencionados. Segundo Lee (2019),[21] comparar os tipos e frequências de erros pré-analíticos entre laboratórios ou entre países é bem difícil, por causa dos diferentes ambientes e sistemas de saúde, serviços prestados pelo laboratório, podendo também estar relacionado à forma como estes erros foram detectados, pois segundo o autor não é fácil identificar os erros pré-analíticos com precisão porque também é difícil contar com o compromisso dos laboratórios em registrar estes erros.[21]

Grande parte dos erros laboratoriais, quando identificados, irá resultar na rejeição das amostras biológicas e, consequentemente, em uma nova coleta de amostra. Segundo Guimarães et al.[8], este fato pode provocar insatisfação, transtornos, ansiedade e inseguranças ao médico e ao paciente. Já em relação ao âmbito laboratorial, estes erros provocam custos desnecessários, atrasos na liberação dos resultados, aumento da carga de trabalho e, principalmente, a perda da credibilidade, confiança e segurança no laboratório, provocando um efeito negativo em sua imagem.[8]

Diversos estudos mostram que estão entre os tipos de erros pré-analíticos mais comumente relatados a identificação incorreta da amostra/paciente, volume inadequado de amostra, amostra hemolisada, tubo de coleta inadequado, amostra coagulada e amostra lipêmica, corroborando com os principais erros pré-analíticos encontrados no presente estudo (Tabela 7).[2,7,11,22,23]

O estudo de Green[2] relatou que a identificação incorreta estava entre uma das causas mais frequentes de erros pré-analíticos. Sushma e Shrikant[7] afirmam que a identificação do paciente é a principal etapa crítica na coleta de sangue. Segundo estes autores, este erro provavelmente pode ser provocado devido à grande carga de trabalho. Realizar a punção venosa da pessoa errada ou rotular erroneamente a amostra biológica de um paciente pode contribuir para o erro laboratorial, isto porque, segundo Green[2], este incidente pode resultar em diagnóstico tardio, testes laboratoriais extras, tratamento inadequado, podendo até mesmo ser fatal se resultar em uma reação hemolítica aguda em casos de transfusão de sangue.[2,7]

Para reduzir este erro laboratorial relacionado à identificação, Sushma e Shrikant[7] preconizam que ao identificar o paciente, informações como nome completo, endereço, número de identificação e/ou data de nascimento devem ser confirmadas. Além disso, pacientes hospitalizados devem utilizar identificação com as informações descritas anteriormente, para que antes da punção venosa o flebotomista possa confirmar esses dados e verificar se a faixa ou pulseira de identificação está presa ao paciente. Pulseiras de identificação com código de barras possuem grande potencial para a redução deste erro. Os flebotomistas devem se apresentar de forma agradável e explicar ao paciente o procedimento que será realizado. Também é necessário que o paciente diga o seu nome; caso isto não seja possível, ele deverá fornecer alguma forma de identificação ou ser identificado por algum membro da família ou cuidador.[7]

No estudo de Codagnone et al.[24], o volume insuficiente de amostra foi a terceira causa dos erros pré-analíticos que foram identificados. De acordo com Green[2], a quantidade insuficiente de amostra é problemática, já que em alguns casos nem todos os testes solicitados pelo médico poderão ser realizados, o que irá exigir uma nova coleta, e com isso atrasos nos resultados dos exames e novos gastos.[2]

Os tubos de coleta devem ser preenchidos com volume correto de amostra para garantir a proporção sangue/aditivo, pois, por exemplo, quantidade insuficiente de amostra em tubos de heparina pode resultar na elevada concentração de heparina e, consequentemente, interferir nos resultados de alguns analitos.[2] Um outro exemplo é dado por Magnette et al.[25], em que os autores relatam que tubos de citrato de sódio devem ser enchidos até 90% do seu volume ou até a marca anotada no tubo, pois em casos de volume insuficiente de amostra ocorre o aumento de sua diluição em razão do volume do anticoagulante líquido e pode aumentar o tempo de coagulação por causa do excesso de citrato ligante de cálcio presente no tubo de coleta.[25]

Os autores Codagnone et al.[24], Marín et al.[23] e Sushma e Shrikant[7] apontaram que a principal causa de erro pré-analítico em seus estudos foi a hemólise.[7,23,24] Segundo Green[2], a presença de hemólise é responsável por 40% a 70% das amostras biológicas inadequadas que chegam ao seu laboratório. Este autor afirma que esse erro pré-analítico pode ser causado pela mistura vigorosa da amostra de sangue, pelo transporte pneumático das amostras feito pelo tubo ou por forçar o sangue através da agulha.[2]

Para Codagnone et al.[24], alguns fatores também podem influenciar a ocorrência de hemólise como a aplicação prolongada do torniquete, constrição inadequada dos músculos do antebraço e seleção inadequada do calibre da agulha para a coleta venosa.[24] Marín et al.[23] relatam que os motivos deste erro pré-analítico podem estar relacionados à pouca

utilização de tubos a vácuo, de maneira que os tubos de amostras são preenchidos diretamente com a seringa; além disso, acrescentam que os funcionários não são suficientemente qualificados para o processo de coleta.[23]

A ruptura das hemácias que resulta na hemólise, mesmo que em um grau leve, pode influenciar os resultados de exames de vários analitos, como LDH, CK, K, AST, ALT, ACP, ALP, ALB, Cl, GGT, GLI, CRE e Na. De fato, quando a amostra está hemolisada, parâmetros como K, ALT, CRE e CK estão superestimados, enquanto parâmetros como ALB, ALP, CL, GGT, GLI e Na estão subestimados.[2,7,24]

Segundo Magnette et al.,[25] para evitar a ocorrência de hemólise em amostras de sangue venoso, algumas medidas devem ser tomadas. Dentre elas podemos citar: aplicação de torniquete em menos de 1 minuto e a obtenção das amostras sem a provocação de traumas, onde o sangue deve fluir livremente para o tubo de coleta sem gerar espuma ou bolhas na amostra e com a mínima tensão. Além disso, também é descrito na literatura sobre a importância da utilização de coletas a vácuo, pois a transferência direta de amostra da seringa para o tubo faz com que as células colidam com a parede do tubo sob a pressão do êmbolo. Ademais, a agitação vigorosa do sangue deve ser evitada e deve haver seleção adequada dos dispositivos de coleta.[25]

Guimarães et al.[8], Costa e Moreli[13] e Marín et al.[23] revelam que tubos de coleta de amostra inadequados estão entre os erros pré-analíticos que foram identificados em seus respectivos estudos.[8,13,23] O estudo de Grecu et al.[26] afirma que amostras tem sido coletadas em tubos com anticoagulantes inadequados.[26] Segundo Li et al., este erro pré-analítico pode estar associado ao descuido das equipes de coleta.[27]

Segundo Najat[28], um dos erros pré-analíticos que atingiram maior porcentagem em seu estudo foi a amostra coagulada.[28] De acordo com Magnette et al.[25], uso prolongado do torniquete, manipulação considerável da agulha na veia, não homogeneização da amostra em tubo contendo anticoagulante ou feita de forma errada, podem provocar a formação de coágulo na amostra.[25] Green[2] relata em seu estudo que a coagulação da amostra pode produzir falsa leucopenia, baixa contagem de hemácias, além da diminuição dos valores de hematócrito. Além disso, os microcoágulos podem ser aspirados e levar à obstrução da sonda dos aparelhos.[2]

Os estudos de Sushma e Shrikant[7] e Sua et al.[4] revelaram que amostra lipêmica foi um dos erros pré-analíticos detectados em seus respectivos estudos.[4,7] O autor Nikolac[29] afirma que a lipidemia é a presença de turvação na amostra de sangue, causada pelo acúmulo de partículas de lipoproteína. Ele também relata que a causa pré-analítica mais comum de lipidemia é o tempo inadequado da coleta de sangue, ou seja, após a refeição. O correto é que os pacientes estejam devidamente preparados e em jejum (que pode variar entre quatro a doze horas de jejum após a última refeição) antes da coleta de sangue. Segundo o autor, isso ocorre porque os pacientes não são devidamente informados sobre como deve proceder o preparo para a coleta de sangue.[29]

O plasma sanguíneo normal consiste em aproximadamente 92% de água e 8% de lipídios, porém na amostra lipêmica a proporção da fase lipídica aumenta e pode chegar a 25%. Desta forma, a lipidemia pode interferir nos resultados dos testes que utilizam métodos de espectrofotometria, já que partículas de lipoproteínas na amostra podem absorver a luz. A quantidade de luz absorvida é inversamente proporcional ao cumprimento de onda, portanto métodos que utilizam cumprimentos de onda menores são mais afetados, pois a absorbância é maior, e sendo assim a lipidemia pode afetar os resultados de alguns parâmetros bioquímicos como ALT, AST e GLI.[7,29]

Segundo Guimarães et al.,[8] erros pré-analíticos estão geralmente associados à elevada rotatividade de pessoas, falta de entendimento sobre as boas práticas laboratoriais, negligência e à falta de capacitação e treinamento dos profissionais envolvidos nos processos pré-analíticos.[8] Os estudos de Marín et al.[23] e Lee[21] afirmam que os erros pré-analíticos estão diretamente ligados ao processo de coleta de sangue, corroborando as informações obtidas neste estudo, já que grande parte dos erros pré-analíticos encontrados estão relacionados a falhas provocadas durante a punção venosa.[21,23]

De acordo com os estudos de Li et al.,[27] Lee[21] e Dhotre et al.,[19] o treinamento e capacitação da equipe de flebotomia gerou melhorias significativas, de forma que estes obtiveram aprimoramento das técnicas de coletas de amostras, que resultou na redução das taxas de erros pré-analíticos.[19,21,27]

CONCLUSÃO

Esta revisão bibliográfica conclui que, apesar dos avanços tecnológicos, a fase pré-analítica ainda é a principal responsável pelos erros laboratoriais e que a maior parte dos erros pré-analíticos estão enraizados nos setores de coleta sanguínea. Cada um dos erros apontados neste estudo possui grande potencial para afetar de diversas formas a qualidade dos resultados e dos testes laboratoriais. Uma pequena falha no processo de coleta sanguínea pode gerar danos ao laboratório e principalmente à saúde do paciente.

Portanto, recomenda-se a realização de treinamentos periódicos e a implantação de programas de educação continuada voltadas para as equipes de flebotomia (envolvendo palestras, aplicação de questionários para avaliar e nivelar o grau de conhecimento destas equipes), focados nas técnicas de punção venosa, ordem e escolha correta dos tubos e dos materiais que serão usados na coleta, utilização de etiquetas com código de barras, preparação adequada do paciente e aplicação dos critérios de rejeição de amostras.

Com isso, estas medidas possuem o objetivo de proporcionar um aperfeiçoamento destes processos e, consequentemente, reduzir as taxas dos erros pré-analíticos, gerando a melhoria do atendimento ao paciente e a emissão de resultados mais fidedignos.

SUPORTE FINANCEIRO

A pesquisa não recebeu financiamento para sua realização.

REFERÊNCIAS

1. Fernandes JLN, Wollinger W, Garrido BC. Rastreabilidade em medicina laboratorial: um estímulo global para resultados exatos no cuidado com o paciente. J Bras Patol Med Lab. 2019; 55(4):402-411.
2. Green SF. The cost of poor blood specimen quality and errors in preanalytical processes. Clin Biochem. 2013; 46(13-14):1175-1179.
3. Aragão DP, Araujo RML. Orientação ao paciente antes da realização de exames laboratoriais. Rev Bras Anal Clin. 2019; 98-102.
4. Sua LF, Amezquita MA, Hernández DE, Alcalá-Flores M, Leib CS, Aguirre-Rojas M, et al. Estaciones automatizadas preanalíticas en el laboratorio de hemostasia. Estudio observacional descriptivo prospectivo, realizado en un hospital universitario de referencia entre el 15 de abril y 15 de julio de 2017. Iatreia. 2019; 32(3):177-183.
5. Faria GM, Pereira RL, Lourenço PM. Erros pré-analíticos em medicina laboratorial: uma avaliação preliminar em diferentes laboratórios de análises clínicas. Rev Bras Anal Clin. 2015; 47(3):105-109.
6. Fernandes TRL, Oliveira CF. Analysis of the pre-analytical phase in a private pathology laboratory of Maringá city-PR, Brazil. J Bras Patol Med Lab. 2016; 52(2):78-83.
7. Sushma BJ, Shrikant C. Study on "Pre-analytical Errors in a Clinical Biochemistry Laboratory": The Hidden Flaws in Total Testing. Anal Biochem. 2019; 8(374):2161-1009.19.
8. Guimarães AC, Wolfart M, Brisolara MLL, Dan C. O laboratório clínico e os erros pré-analíticos. Rev HCPA. 2011; 31(1):66-72.
9. Ambachew S, Adane K, Worede A, Melak T, Asmelash D, Damtie S, et al. Errors in the total testing process in the clinical chemistry laboratory at the University of Gondar Hospital, Northwest Ethiopia.Ethiop J Health Sci. 2018; 28(2):235-244.
10. Martins JM, Rateke ECM, Martinello F. Assessment of the pre-analytical phase of a clinical analyses laboratory. J Bras Patol Med Lab. 2018; 54(4):232-240.
11. 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; 47(3):201-210.
12. Ramos LR, Oliveira MV, Souza CL. Avaliação de variáveis pré-analíticas em exames laboratoriais de pacientes atendidos no Laboratório Central de Vitória da Conquista, Bahia, Brasil. J Bras Patol Med Lab. 2020; 56: 1-8.
13. Costa VG, Moreli ML. Principais parâmetros biológicos avaliados em erros na fase pré-analítica de laboratórios clínicos: revisão sistemática. J Bras Patol Med Lab.2012; 48(3):163-168.
14. Campana GA, Oplustil CP, Faro LB. Tendências em medicina laboratorial. J Bras Patol Med Lab. 2011; 47(4):399-408.
15. Ashakiran S, Sumati ME, Murthy NK. A study of pre-analytical variables in clinical biochemistry laboratory. Clin biochem.2011; 44(10-11):944-945.
16. Guimarães AC, Wolfart M, Brisolara ML, Dani C. Causes of rejection of blood samples handled in the clinical laboratory of a University Hospital in Porto Alegre. Clin Biochem. 2012; 45(1-2):123-126.
17. Tapper MA, Pethick JC, Dilworth LL, McGrowder DA. Pre-analytical errors at the chemical pathology laboratory of a teaching hospital. JCDR. 2017; 11(8):BC16.
18. Kadić D, Avdagić-ismić A, Hasić S. The prevalence of pre-analytical errors in the laboratory of the Cantonal Hospital Zenica in Bosnia and Herzegovina. Med Glas. 2019; 16(1).
19. Dhotre PS, Dhotre SV, Shaikh A. A Comparative Study of Pre-analytical Errors in Central Clinical Laboratory in a Tertiary Care Hospital in Maharashtra. JKIMSU. 2020; 9(2).
20. Salinas M, López-Garrigós M, Yago M, Ortuño M, Carratala A, Aguado C, et al. Evaluación de la calidad en el laboratorio en la fase preanalítica: un estudio multicéntrico. Rev Calid Asist. 2011; 26(4):264-268.
21. Lee NY. Reduction of pre-analytical errors in the clinical laboratory at the University Hospital of Korea through quality improvement activities. Clin Biochem. 2019;70: 24-29.
22. Plebani M. Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing. Clin Biochem Rev. 2012; 33(3):85.
23. Marín AG, Ruiz FR, Hidalgo MMP, Mendoza PM. Pre-analytical errors management in the clinical laboratory: a five-year study. Biochem Med. 2014; 24(2):248-257.
24. Codagnone FT, Alencar SMF, Shcolnik W, Chaves SRDS, Silva LA, Henriques VHO. The use of indicators in the pre-analytical phase as a laboratory management tool. J Bras Patol Med Lab. 2014;50(2):100-104.
25. Magnette A, Chatelain M, Chatelain B, Ten Cate H, Mullier F. Pre-analytical issues in the haemostasis laboratory: guidance for the clinical laboratories. Thromb j.2016; 14(1):49.
26. Grecu DS, Vlad DC, Dumitrascu V. Quality indicators in the preanalytical phase of testing in a stat laboratory. Lab Med. 2014; 45(1):74-81.
27. Li HY, Huang XN, Yang YC, Huang WF, Chen L, Song P, et al. Reduction of preanalytical errors in clinical laboratory through multiple aspects and whole course intervention measures. J Evid Based Med. 2014; 7(3):172-177.
28. Najat D. Prevalence of pre-analytical errors in clinical chemistry diagnostic labs in Sulaimani city of Iraqi Kurdistan. PLos ONE. 2017; 12(1):e0170211.
29. Nikolac N. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. Biochem Med. 2014; 24(1):57-67.

Interferência de medicamentos na avaliação do perfil lipídico: uma revisão de literatura

Interference of medications in the evaluation of the lipid profile: a review of the literature

Palloma Aline de Mello[1], *Bruna Gabriela Rocha*[1], *William Neves Oliveira*[1], *Thays Santos Mendonça*[1], *Caroline Pereira Domingueti*[1]

[1] Universidade Federal de São João del-Rei. São João del-Rei, MG, Brasil.

Resumo

A estrita relação entre doenças cardiovasculares e dislipidemias exige o monitoramento periódico do perfil lipídico através de dosagens séricas de colesterol total, triglicérides, colesterol da lipoproteína de baixa densidade (c-LDL) e colesterol da lipoproteína de alta densidade (c-HDL). Contudo, esses testes laboratoriais estão sujeitos à interferência medicamentosa *in vivo* e *in vitro*. O objetivo desta revisão da literatura foi disponibilizar os principais medicamentos que podem interferir nos exames de avaliação do perfil lipídico, com seus respectivos mecanismos de interferência *in vivo* ou *in vitro*. Alguns fármacos podem causar como reação adversa o aumento dos níveis de c-LDL e triglicérides, ou a redução dos níveis de c-HDL, o que está associado a um maior risco de eventos cardiovasculares. Por outro lado, outros fármacos podem reduzir os níveis de c-LDL e triglicérides, ou aumentar os níveis de c-HDL. Alguns medicamentos ainda podem interferir *in vitro* na dosagem dos biomarcadores de avaliação do perfil lipídico. O monitoramento e diagnóstico das dislipidemias devem levar em consideração estas interferências medicamentosas, já que a interpretação equivocada dos exames laboratoriais pode resultar em tratamento desnecessário ou falta de tratamento farmacológico, gastos desnecessários e prejuízo na qualidade de vida do paciente.

Palavras-chave: Colesterol; Dislipidemias; Efeitos Colaterais e Reações Adversas Relacionados a Medicamentos; Técnicas de Laboratório Clínico; Triglicerídeos

Abstract

The strict relationship between cardiovascular disease and dyslipidemia requires periodic monitoring of the lipid profile through serum measurements of total cholesterol, triglycerides, low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c). However, these laboratory tests are subject to drug interference in vivo and in vitro. The purpose of this literature review was to make available the main drugs that can interfere with lipid profile assessment tests, with their respective in vivo or in vitro interference mechanisms. Some drugs can cause as adverse reaction the increase of LDL-c and triglycerides levels, or the reduction of HDL-c levels, which is associated with a greater risk of cardiovascular events. On the other hand, other drugs can reduce LDL-c and triglycerides levels, or increase HDL-c levels. Some medications can still interfere in vitro in the dosage of biomarkers to assess the lipid profile. The monitoring and diagnosis of dyslipidemia should take into account these drug interferences, since the misinterpretation of laboratory tests may result in unnecessary treatment or lack of pharmacological treatment, unnecessary expenses and damage to the patient's quality of life.

Keywords: Cholesterol; Clinical Laboratory Techniques; Drug-Related Side Effects and Adverse Reactions; Dyslipidemias; Triglycerides

Correspondência
William Neves Oliveira
Universidade Federal de São João del-Rei
Rua Sebastião Gonçalves Coelho, 400 – Chanadour
Divinópolis – MG – Brasil CEP: 35501-296
E-mail: williamnevesufsj@gmail.com

Recebido em 26/04/2021 | Aprovado em 14/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202141

1. INTRODUÇÃO

As dislipidemias são caracterizadas pelos níveis séricos anormais de lipoproteínas, podendo desencadear doenças cardiovasculares, sendo que a predisposição genética, idade, gênero e estilo de vida são fatores determinantes para o seu desenvolvimento.[1]

A importância da identificação das dislipidemias motivou a avaliação laboratorial do perfil lipídico através de dosagens séricas de colesterol total, triglicérides, colesterol da lipoproteína de densidade muito baixa (c-VLDL), colesterol da lipoproteína de baixa densidade (c-LDL) e colesterol da lipoproteína de alta densidade (c-HDL).[2] Contudo, esses testes laboratoriais estão sujeitos à interferência medicamentosa *in vivo* e *in vitro*.[3]

A utilização de alguns medicamentos pode acarretar como efeito adverso o aumento nos níveis séricos de triglicérides e de c-LDL e redução dos níveis de c-HDL, sendo importante o monitoramento do perfil lipídico nos indivíduos que usam esses medicamentos cronicamente, devido ao aumento do risco de desenvolvimento de eventos cardiovasculares.[4]

2. MEDICAMENTOS QUE INTERFEREM NOS EXAMES DE AVALIAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO

A Tabela 1 apresenta os principais medicamentos que interferem nos exames laboratoriais de avaliação do perfil lipídico e os mecanismos *in vivo* ou *in vitro* responsáveis pela interferência.

2.1 Hipolipemiantes

Dentre os medicamentos utilizados para o tratamento das dislipidemias, tem-se os fibratos. Eles atuam alterando o metabolismo lipídico ao diminuir a liberação de ácidos graxos nos adipócitos, resultando em diminuição da síntese de lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) e, consequentemente, em diminuição dos níveis séricos de triglicérides. Além disso, promove aumento dos níveis séricos de c-HDL e da expressão de receptores hepáticos para LDL, promovendo redução dos níveis séricos de c-LDL.[5]

Já as estatinas diminuem os níveis séricos de c-LDL ao inibirem a HMG-CoA redutase, que é a enzima responsável pela síntese de colesterol.[6] A ezetimiba, por sua vez, interrompe a absorção de colesterol ao inibir a atividade da proteína NPC1L1, que é responsável pela captação intestinal de lipídios, diminuindo, assim, os níveis séricos de c-LDL.[7]

Outro medicamento hipolipemiante é a colestiramina. O complexo formado pela ligação de ácidos biliares com a colestiramina é excretado nas fezes, reduzindo, assim, os níveis de ácidos biliares. O efeito induz a sua síntese pelos hepatócitos a partir do colesterol, sendo que esse consumo de colesterol reduz seus níveis intracelulares, estimulando a captação de LDL sérico para sua síntese, o que, consequentemente, diminui os níveis sanguíneos de c-LDL.[8]

2.2 Antiagregantes plaquetários e anticoagulantes

Alguns antiagregantes plaquetários, como o clopidogrel, podem aumentar o resultado da dosagem de colesterol total através de um mecanismo desconhecido.[9] A heparina, um anticoagulante, por outro lado, pode diminuir os níveis de colesterol através de mecanismo desconhecido.[9]

2.3 Anti-hipertensivos

Os diuréticos podem aumentar os níveis séricos de triglicérides. Contudo, não apresentam importância clínica comprovada e o mecanismo para esse efeito é desconhecido.[10] A hidroclorotiazida, que é um diurético tiazídico, aumenta também os níveis séricos de colesterol total e de c-LDL através de mecanismo desconhecido.[11]

Os betabloqueadores reduzem os níveis séricos de c-HDL e aumentam os de triglicérides, sendo que, assim como os diuréticos, o mecanismo é desconhecido devido a não comprovação da importância clínica.[10] O atenolol, além do efeito causado por ser um betabloqueador, também aumenta falsamente os níveis de lipoproteínas dosadas através de eletroforese. O mecanismo é igualmente desconhecido.[9]

Outra classe de medicamentos anti-hipertensivos que podem interferir no perfil lipídico é a dos inibidores da enzima conversa da angiotensina (iECA). O captopril, por efeito fisiológico no soro para avaliação do perfil lipídico, é capaz de diminuir os níveis de colesterol total e c-LDL e aumentar os de c-HDL[12]. Além disso, interfere na eletroforese para dosagem de lipoproteínas, aumentando falsamente seus níveis séricos.[9] O lisinopril também interfere na eletroforese para a dosagem de lipoproteínas, resultando em falso aumento de seus níveis séricos.[9]

2.4 Glicocorticoides

Os glicocorticoides, como a prednisona e a prednisolona, aumentam a síntese de ácidos graxos e estimulam a lipase hepática, resultando em aumento dos níveis séricos de triglicérides, colesterol total e c-LDL.[13]

Tabela 1

Principais fármacos que podem interferir nos exames de avaliação do perfil lipídico, mecanismo *in vivo* ou *in vitro* responsável pela interferência e resposta à alteração.

Fármaco	Mecanismo	Resposta
	In vitro	
Ácido ascórbico	Inibição dos ensaios que utilizam oxidases e peroxidases para dosagem de colesterol	Falsa diminuição de colesterol total
Atenolol, captopril, lisinopril	Interferência na eletroforese para dosagem de lipoproteínas	Falso aumento de lipoproteínas
1. Metronidazol 2. Ácido ascórbico	1. Interferência no método que utiliza NAD para dosagem de triglicérides 2. Inibição dos ensaios que utilizam oxidases e peroxidases para dosagem de triglicérides	Falsa diminuição de triglicérides
	In vivo	
1. Estanazolol 2. Fenotiazídicos 3. Betabloqueadores	1. Alteração da função hepática 2. Alteração do metabolismo lipídico 3. Desconhecido	Diminuição de c-HDL
Ácido valproico, captopril, fibratos	Desconhecido	Aumento de c-HDL
1. Colestiramina 2. Ácido valproico, captopril, heparina 3. Estatinas 4. Ezetimiba 5. Levotiroxina 6. Ômega 3 7.Fibratos 8. Ácido nicotínico 9. Metformina	1. Aumento da excreção de ácidos biliares nas fezes e aumento do consumo de colesterol 2. Desconhecido 3. Inibição da HMG-CoA redutase e da síntese hepática de colesterol 4. Inibição da absorção intestinal de colesterol 5. Aumento do metabolismo do colesterol 6. Redução da lipemia pós-prandial e da síntese de VLDL e de Apo B-100 7. Aumento da expressão de receptores hepáticos de LDL 8. Inibição da liberação de ácidos graxos pelos adipócitos e da síntese hepática de colesterol 9. Aumento do metabolismo lipídico	Diminuição de c-LDL
1. Carbamazepina, ciclosporina, clopidogrel, neomicina, hidroclorotiazida, clozapina, olanzapina, risperidona 2. Lopinavir, ritonavir, fenotiazídicos 3. Estanazolol 4. Isotretinoína 5. Contraceptivos orais	1. Desconhecido 2. Diminuição do metabolismo lipídico 3. Alteração da função hepática 4. Aumento da síntese de LDL e da absorção de lipídios da dieta 5. Alteração do metabolismo das lipoproteínas	Aumento de c-LDL
1. Cetoconazol, haloperidol 2. Ácido nicotínico 3. Metformina 4. Fibratos	1. Desconhecido 2. Inibição da liberação de ácidos graxos pelos adipócitos e da síntese hepática de triglicérides 3. Aumento do metabolismo lipídico 4. Inibição da liberação de ácidos graxos pelos adipócitos e da síntese hepática de triglicérides	Diminuição de triglicérides
1. Diuréticos, linagliptina, betabloqueadores, clozapina, olanzapina, risperidona 2. Lopinavir, ritonavir, fenotiazídicos 3. Contraceptivos orais 4. Isotretinoína 5. Prednisolona, prednisona	1. Desconhecido 2. Diminuição do metabolismo lipídico 3. Alteração do metabolismo das lipoproteínas 4. Aumento da síntese de triglicérides 5. Aumento da síntese de ácidos graxos e da atividade da lipase hepática	Aumento de triglicérides

c-HDL – colesterol da lipoproteína de alta densidade; c-LDL – colesterol da lipoproteína de baixa densidade; NAD – nicotinamida adenina dinucleotídeo.

2.5 Antimicrobianos

O cetoconazol, assim como os outros antifúngicos da classe dos imidazóis, compromete a produção de triglicérides através de um mecanismo desconhecido, resultando na diminuição de seus níveis séricos.[14]

A dosagem de triglicérides sérica por meio do teste de oxirredução dos triglicérides pode zerar devido ao uso de metronidazol, pois este fármaco apresenta pico de absorbância compatível ao do nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) em pH neutro.[15]

O uso de neomicina, que é um antibacteriano aminoglicosídeo, pode aumentar os níveis séricos de colesterol total através de mecanismo desconhecido.[9]

2.6 Antiepilépticos

A interferência dos antiepilépticos no perfil lipídico ainda não é totalmente elucidada, sendo que há estudos que apontam o uso de carbamazepina associado ao aumento sérico do colesterol total.[16] Já o uso de ácido valproico pode diminuir os níveis de c-LDL e colesterol total e aumentar os de c-HDL por mecanismo desconhecido.[16]

2.7 Antipsicóticos

O uso dos fenotiazídicos, como a clorpromazina, pode alterar o metabolismo lipídico e, consequentemente, aumentar os níveis séricos de triglicérides e c-LDL com diminuição dos níveis de c-HDL.[17] Há relatos da associação entre o haloperidol e a diminuição dos níveis séricos de triglicérides, contudo o mecanismo do efeito é desconhecido.[17]

A olanzapina e a clozapina aumentam os níveis séricos de colesterol total. Além disso, a olanzapina, assim como a risperidona, aumenta também os níveis de triglicérides através de mecanismo desconhecido.[16]

2.8 Hormônios

A levotiroxina promove aumento do metabolismo do colesterol, diminuindo os níveis séricos de c-LDL e colesterol total.[12] Os contraceptivos com estrogênio e progesterona alteram o metabolismo das lipoproteínas, sendo que o colesterol é o ponto-chave para a esteroidogênese, resultando em aumento dos níveis séricos de triglicérides e colesterol total.[18]

O mecanismo para o aumento dos níveis séricos de c-LDL e diminuição dos de c-HDL devido ao uso de estanazolol não é totalmente elucidado, contudo sabe-se que o fármaco altera a função hepática, o que pode acarretar alteração da síntese e secreção de lipoproteínas.[19]

2.9 Vitaminas

O ácido nicotínico (vitamina B3) inibe os receptores responsáveis pela secreção de ácidos graxos dos adipócitos, comprometendo a síntese hepática de triglicérides e colesterol e, consequentemente, diminuindo seus níveis séricos.[20]

Já o ácido ascórbico (vitamina C) interfere nos resultados de métodos que utilizam oxidases e peroxidases para a dosagem sérica de triglicérides e colesterol, como a reação de Trinder, que é inibida pela ação da vitamina, diminuindo falsamente os níveis séricos de triglicérides e colesterol total.[21]

2.10 Imunossupressor

O uso de ciclosporina pode induzir o aumento dos níveis séricos de colesterol total através de mecanismo desconhecido.[22]

2.11 Tratamento da acne

A isotretinoína induz a síntese de triglicérides, colesterol e LDL, aumentando, assim, seus níveis séricos e diminuindo os de HDL. Além disso, o fármaco estimula a síntese de quilomícrons ao aumentar a absorção lipídica proveniente da dieta, efeito que também aumenta os níveis de triglicérides.[23]

2.12 Ácido graxo

O ômega 3 reduz a lipemia pós-prandial e a síntese de VLDL e de apolipoproteína B-100, diminuindo os níveis séricos de triglicérides e de c-LDL.[24]

2.13 Hipoglicemiantes

Há relatos do aumento sérico de triglicérides associado ao uso de linagliptina, contudo o mecanismo para o efeito é desconhecido.[9] Já a metformina altera o metabolismo hepático dos lipídios e aumenta a depuração de lipoproteínas provenientes da alimentação, reduzindo os níveis séricos de ácidos graxos, VLDL, triglicerídeos e colesterol total.[25]

2.14 Antirretrovirais

Os inibidores de protease, como o lopinavir e o ritonavir, inibem a atividade de proteínas responsáveis pelo metabolismo lipídico, diminuindo a captação e clivagem hepática de triglicérides e aumentando seus níveis séricos, assim como os de c-LDL.[26]

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Alguns fármacos podem causar como reação adversa o aumento dos níveis de colesterol total, c-LDL, c-VLDL e triglicérides, ou a redução dos níveis de c-HDL, resultando em aumento do risco de eventos cardiovasculares, sendo necessário o monitoramento contínuo do perfil lipídico dos pacientes que utilizam estes medicamentos. Por outro lado, outros fármacos podem reduzir os níveis de colesterol total, c-LDL e triglicérides, ou aumentar os níveis de c-HDL, sendo importante o conhecimento de quais fármacos podem causar estas interferências *in vivo* para o ajuste da dose do hipolipemiante no caso dos pacientes que utilizam este tipo de medicamento para controle de dislipidemias. Além disso, alguns medicamentos ainda podem interferir *in vitro* na

dosagem dos biomarcadores de avaliação do perfil lipídico, sendo fundamental o conhecimento destas interferências pelos profissionais da área da saúde para evitar erros de interpretação dos exames laboratoriais e proporcionar o diagnóstico e monitoramento adequados dos pacientes.

4. REFERÊNCIAS

1. Araki MVR, Barros C, Santos EG. Análise do perfil lipídico de crianças e adolescentes do estado de Sergipe. Scientia Plena. 2010; 6:01-02.
2. Guedes RF, Melo TE, Lima AP, Guimarães ALA, Moreira NBB, Garcia PG. Análise do perfil lipídico e dos fatores de risco associados a doenças cardiovasculares em acadêmicos da área da saúde de Juiz de Fora. HU Revista. 2019; 42(2): 159-60.
3. Bezerra LA, Malta DJN. Interferências medicamentosas em exames laboratoriais. Ciências biológicas e da saúde. 2016;2(3):41-43.
4. Alves JFR. Alterações persistentes de colesterol total e LDL-colesterol em crianças em tratamento da desnutrição: consequências da programação metabólica? 2012. [dissertação]. Universidade Federal de Alagoas; 2012.
5. Faludi AA, Oliveira IMC, Kerr JFS et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose - 2017. Arq. Bras. Cardiol [Internet]. 2017.109(2). Disponível em: http://publicacoes.cardiol.br/2014/diretrizes/2017/02_DIRETRIZ_DE_DISLIPIDEMIAS.pdf.
6. Fonseca FAH. Farmacocinética das estatinas. Arq Bras Cardiol [Internet]. 2005; 85(5):9. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/abc/v85s5/v85s5a03.pdf.
7. Marcondes AVF. Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de fármacos utilizados no tratamento da hipercolesterolemia em plasma. 2016. [dissertação]. Universidade de São Paulo; 2016.
8. Whalen K, Finkel R. Farmacologia ilustrada. Artmed, 6ª ed, p. 319, 2016.
9. Santos PCJL, Silva AM, Marcatto LR, et al. Interferência de medicamentos utilizados nos exames laboratoriais para monitoramento de dislipidemias e diabetes mellitus. Unisanta Health Science. 2017; 1(1); 26-9.
10. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão VI. Tratamento medicamentoso. J Bras Nefrol [Internet]. 2010; 29-43. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/jbn/v32s1/v32s1a08.pdf.
11. Santos FBF, Balzaneli ES, D'Andrade MRP. Avaliação do perfil lipídico de pacientes diabéticos e hipertensos tratados com captopril. J Bras Patol Med Lab [Internet]. 2009; 45(3): 207-212. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v45n3/a05v45n3.pdf.
12. Ferreira BC, Santos KL, Rudolph SC, Alcanfor JDX, Cunha LC da. Estudo dos medicamentos utilizados pelos pacientes atendidos em laboratório de análises clínicas e suas interferências em testes laboratoriais: uma revisão da literatura. Revista Eletrônica de Farmácia [Internet]. 2009; 6(1): 39-40, v. 6, n. 1, p. 33-43. Disponível em: https://repositorio.bc.ufg.br/bitstream/ri/1497/1/5859-22025-1-PB.pdf.
13. Costa ACA, Bolina VMG, Rodrigue JPV, Reis TM, Oliveira CL, Baldoni AO. Pacientes em uso crônico de prednisona: perfil clínico e laboratorial. Rev. Eletrônica Farm [Internet] 2018. Disponível em: https://www.revistas.ufg.br/REF/article/view/47974
14. Viçosa AL, Estudo da utilização de incrementadores de dissolução para compressão direta: enfoque no desenvolvimento de medicamentos genéricos. 2003. [dissertação]. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2003.
15. Centro de informação sobre medicamentos do Conselho Regional de Farmáciado Estado do Paraná. Interação de fármacos com exames de laboratório. CIM FORMANDO. [Internet]. 2018; Ano XV: 02-14. Disponível em:https://www.crf-pr.org.br/uploads/revista/35428/BFtOSB44cJW25q_WSqPV8rq3vZJ_1Y2_.pdf.
16. Teixeira PJR, Rocha FL. Efeitos adversos metabólicos de antipsicóticos e estabilizadores de humor. Rev Psiquiatr [Internet]. 2006; 28(2):192-19. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/rprs/v28n2/v28n2a11.pdf.
17. Cerqueira Filho EA, Arandas FS, Oliveira IR, Sena EP. Dislipidemias e antipsicóticos atípicos. J Bras Psiquiatr [Internet]. 2006; 55(4):, v. 55, n. 4, p. 296-307. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/jbpsiq/v55n4/a06v55n4.pdf.
18. Santos MCS, Rebelo ACS, Zuttin RS, Cesar MC, Catai AM, Silva E. Influência do uso de contraceptivos orais nos níveis lipídicos e nas respostas cardiorrespiratórias de mulheres saudáveis e sedentárias. Rev Bras Fisioter [Internet]. 2008; 12(3): 188-94. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/rbfis/v12n3/a06v12n3.pdf.
19. Machado AS, Ribeiro BCS, Soares D. Efeitos fisiológicos dos esteroides anabólicos androgênicos orais mais utilizados por praticantes de exercícios resistidos. 2015. [dissertação]. Universidade do Vale do Paraíba, 2015.
20. Santos RD. Farmacologia da niacina ou ácido nicotínico. Arq. Bras. Cardiol [Internet]. 2005; 85(V): 17-9. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/abc/v85s5/v85s5a05.pdf.
21. Martinello F, Silva EL. Interferência do ácido ascórbico nas determinações de parâmetros bioquímicos séricos: estudos *in vivo* e *in vitro*. J. Bras. Patol. Med. Lab. [Internet]. 2003; 39(4): 323-34. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v39n4/18546.pdf.
22. Garcia SC, Lopes LS, Schott KL, Beck ST, Pomblum VJ. Ciclosporina A e Tacrolimus: uma revisão. J. Bras. Patol. Med. Lab. [Internet]. 2004; 40(6): 393-401. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S1676-24442004000600007.
23. Borges MB, Ribeiro RKB, Costa FPP, Cavalcante JC. Avaliação laboratorial do perfil lipídico e testes de lesão hepatocelular em pacientes com acne vulgar sob uso de isotretinoína oral. Rev Bras Clin Med [Internet]. 1 nov-dez;9(6):397-402. Disponível em: http://files.bvs.br/upload/S/1679-1010/2011/v9n6/a2559.
24. Martins MB, Suaiden AS, Piotto RF, Barbosa M. Propriedades dos ácidos graxos poli-insaturados – Ômega 3 obtidos de óleo de peixe e óleo de linhaça. Rev Inst Ciênc Saúde [Internet]. 2008;26(2):153-6.Disponível em: https://www3.unip.br/presencial/comunicacao/publicacoes/ics/edicoes/2008/02_abr_jun/V26_N2_2008_p153-156.pdf.
25. Dias P, Reis R, Parente F, Silva MJ, Moura MMA. Utilização da metformina como fármaco hipolipemiante em doentes não diabéticos. Medicina Interna [Internet]. 2004;11(4): 178-182. Disponível em: https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/11847/1/Utiliza%c3%a7%c3%a3o%20da%20metformina%20como%20f%c3%a1rmaco%20hipolipemiante.pdf.
26. Kramer AS, Lazzarotto AR, Sprinz E, Manfroi WC. Alterações metabólicas, terapia antirretroviral e doença cardiovascular em idosos portadores de HIV. Arq Bras Cardiol [Internet]. 2009; 93(5): 561-8. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/abc/v93n5/a19v93n5.pdf.

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) no diagnóstico complementar da toxoplasmose congênita: uma revisão bibliográfica

Polymerase Chain Reaction (PCR) in the complementary diagnosis of congenital toxoplasmosis: a bibliographic review

Brenda Caroline Berton[1], *Thaís Dalzochio*[2]

[1] Discente do Curso de Biomedicina no Centro Universitário CNEC de Bento Gonçalves. Bento Gonçalves, RS, Brasil.

[2] Doutorado em Qualidade Ambiental pela Universidade Feevale - (Docente). Novo Hamburgo, RS, Brasil.

Resumo

A toxoplasmose é uma doença de ampla distribuição geográfica, sendo um grave problema de saúde pública. A infecção primária durante a gravidez pode causar infecção congênita ao feto e gerar consequências graves. Neste contexto, a reação em cadeia da polimerase (PCR) é atualmente um dos métodos mais eficientes para investigação fetal em casos de suspeita de infecção. Portanto, o objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão bibliográfica sobre a toxoplasmose congênita e seu diagnóstico molecular através da PCR. Para tanto, foram pesquisados artigos publicados no período de janeiro de 2010 a abril de 2021 em diferentes bases de dados usando os descritores "Reação em Cadeia da Polimerase", "*Toxoplasma gondii*" e "Toxoplasmose congênita". A partir da pesquisa, foi possível verificar que a combinação de métodos sorológicos com a realização da PCR, principalmente no líquido amniótico, constitui uma importante ferramenta para o diagnóstico antenatal e pós-natal da toxoplasmose congênita. Além disso, a PCR em tempo real parece não apresentar melhores resultados em comparação à PCR convencional. Não obstante, estudos voltados à padronização da técnica visando melhor sensibilidade são necessários, uma vez que o diagnóstico da toxoplasmose gestacional/congênita permite a implementação do tratamento a fim de minimizar as consequências da infecção ao neonato.

Palavras-chave: Reação em Cadeia da Polimerase; Toxoplasma; Toxoplasmose Congênita; Técnicas de Diagnóstico Molecular

Abstract

Toxoplasmosis is a disease of wide geographical distribution, being a serious public health concern. The primary infection during pregnancy may cause congenital infection of the infant and lead to serious consequences. In this context, the polymerase chain reaction (PCR) is currently one of the most efficient methods for fetal investigation in cases when infection is suspected. Therefore, the present study aimed to conduct a literature review on congenital toxoplasmosis and its molecular diagnosis by PCR. Thus, the research for papers published between January 2010 and April 2021 was conducted in different databases, using the terms "polymerase chain reaction", "Toxoplasma gondii" and "congenital toxoplasmosis". It was possible to verify that the combination of serological methods and PCR, mainly of the amniotic fluid, is a valuable tool the antenatal and post-natal diagnosis of congenital toxoplasmosis. Furthermore, real time PCR seems to have no better results in comparison to conventional PCR. Nevertheless, studies related to standardization of the technique aiming higher sensitivity are necessary since the diagnosis of gestational/congenital toxoplasmosis enables the treatment in order to minimize the consequences of the infection to the infant.

Keywords: Polymerase Chain Reaction; Toxoplasma; Toxoplasmosis, Congenital; Molecular Diagnostic Techniques

Correspondência
Thaís Dalzochio
Centro Universitário CNEC de Bento Gonçalves
Rua Arlindo Franklin Barbosa, 460 - São Roque
Bento Gonçalves - RS, CEP: 95700-000
E-mail: tdalzochio@gmail.com

Recebido em 22/01/2021 | Aprovado em 23/09/2021 | DOI: 10.21877/2448-3877.202102096

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma doença de ampla distribuição geográfica, o que a torna um grave problema de saúde em vários países, sendo causada principalmente pela ingestão de oocistos do protozoário *Toxoplasma gondii* presentes na água, nos alimentos ou no solo contaminando com fezes felinas, ou de cistos presentes em carne crua ou mal cozida.[1-3] Quando a infecção ocorre durante a gravidez (transmissão vertical), há risco de infecção congênita, que pode causar lesões graves ao feto.[4] No entanto, aproximadamente 85% dos recém-nascidos com toxoplasmose congênita não apresentam sinais clínicos evidentes ao nascimento.[5] Quando presentes, as manifestações podem ser encefalite, icterícia, urticária e hepatoesplenomegalia, geralmente associada à coriorretinite, hidrocefalia e microcefalia, com altas taxas de morbidade e mortalidade.[1]

As incidências de toxoplasmose no Brasil estão entre as mais altas relatadas na literatura, não obstante a vigilância epidemiológica específica para esta doença ainda esteja em fase de estruturação.[6] Mundialmente, a soroprevalência da doença é variada, possivelmente em decorrência das diversidades étnicas e geográficas relacionadas às condições sanitárias, índices socioeconômicos e, ainda, de acordo com a idade e a população estudada. A prevalência da infecção latente varia entre 10% e 75% na população mundial, com base em estudos sorológicos.[7,8]

A prevalência da infecção congênita varia de 0,1 a 0,3 por mil nascidos vivos. A taxa de transmissão materno-fetal aumenta com a idade gestacional, de menos de 15% na 13ª semana de gestação para mais de 70% na 36ª semana.[4] Isto ocorre porque a barreira placentária é mais eficiente no primeiro semestre de gestação, permitindo a passagem do protozoário em menos de 10% das gestantes infectadas. Porém, a barreira placentária se torna mais permeável conforme a evolução da gestação.[9]

Caso exista a suspeita de infecção fetal, a amniocentese deve ser realizada para a identificação do DNA do parasito. Uma das técnicas que pode ser utilizada é a reação em cadeia da polimerase (PCR), um dos métodos mais eficientes para investigação fetal.[10] Neste contexto, é importante destacar que o tratamento precoce e adequado das mulheres infectadas durante a gravidez reduz as complicações, sequelas e óbitos, tornando evidente os benefícios da triagem pré-natal.[2,11] Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica acerca do diagnóstico da toxoplasmose gestacional/congênita com ênfase nos métodos moleculares.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma revisão narrativa de caráter descritivo a partir de publicações em bases de dados *on-line*, relacionada à utilização da PCR no diagnóstico complementar da toxoplasmose congênita. A coleta de material foi baseada na busca de artigos científicos publicados no período de janeiro de 2010 a abril de 2021, nas bases de dados Biblioteca Virtual da Saúde (BVS), LILACS, PubMed (*National Library of Medicine*) e SciELO (*Scientific Electronic Library Online*). Na pesquisa foram utilizadas as seguintes palavras-chave: "reação em cadeia da polimerase", "*Toxoplasma gondii*", "toxoplasmose congênita", bem como a combinação entre elas, nos idiomas português e inglês.

Inicialmente foram selecionadas 64 publicações através da leitura do título e resumo, abrangendo artigos originais, de revisão e comunicações breves. As referências listadas nos trabalhos selecionados, quando de livre acesso, também foram utilizadas como fonte de pesquisa. Foram incluídos artigos publicados no referido período, que priorizaram a utilização da técnica de PCR para o diagnóstico da toxoplasmose congênita. Foram excluídos da pesquisa monografias e resumos, bem como artigos publicados no período anterior ao ano 2010, que utilizaram outros métodos no diagnóstico da infecção, excluindo a PCR, ou ainda que demonstraram o uso do teste para detecção de outras doenças.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos critérios de inclusão e exclusão, 18 artigos foram elegíveis para integrar a presente pesquisa. Na Tabela 1, encontra-se a relação dos artigos publicados no período abrangido sobre o uso da PCR no diagnóstico da toxoplasmose congênita. Pode-se verificar que a maioria dos estudos foi do tipo retrospectivo, sendo que o número amostral variou de 12 a 1.386. No que concerne às técnicas para diagnóstico da toxoplasmose congênita, a PCR do líquido amniótico foi a mais utilizada, seguida da PCR do sangue materno e do neonato.

Os melhores métodos para detecção precoce da infecção congênita são ELISA (IgG e IgM), teste de avidez de anticorpos IgG e PCR do líquido amniótico. [1] O diagnóstico da infecção materna é realizado atualmente pelo perfil sorológico da doença aguda, que exibe positividade para anticorpos IgM e IgG. Como os níveis de anticorpos IgM podem se manter positivos por um longo período (até 18 meses) após a infecção, outros métodos devem ser utilizados, como o

Tabela 1

Artigos publicados entre janeiro de 2010 e abril de 2021 sobre o uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) no diagnóstico da toxoplasmose gestacional/congênita

Tipo de estudo	Número amostral	Técnica utilizada	Referência
Estudo prospectivo	12 neonatos	PCR do sangue periférico	(12)
Revisão da literatura	Não se aplica	PCR do material placentário, inoculação de sangue fetal em camundongos, Elisa e cultura de células	(13)
Estudo transversal descritivo e retrospectivo	98 gestantes e seus 99 recém-nascidos (um parto gemelar)	IgM, IgG, avidez de IgG, PCR do líquido amniótico	(14)
Estudo prospectivo	146 gestantes	Avidez de IgG e PCR do líquido amniótico, sangue materno e do cordão umbilical	(15)
Estudo retrospectivo	33 amostras de líquido amniótico	PCR comercial aninhado, PCR convencional e PCR em tempo real	(16)
Estudo prospectivo	23 neonatos com infecção congênita e 31 não infectados	Avidez de IgG e PCR convencional e em tempo real (sangue periférico)	(17)
Estudo retrospectivo	488 gestantes	PCR do líquido amniótico	(18)
Estudo retrospectivo	1.386 gestantes com IgG positivo	PCR do líquido amniótico	(19)
Estudo prospetivo	487 gestantes e seus recém-nascidos (quando houve detecção de anticorpos IgG)	IgM, IgG, PCR e avidez de IgG (todos avaliados no sangue periférico)	(20)
Revisão da literatura (metanálise)	4.171 amostras	PCR do líquido amniótico	(21)
Estudo retrospectivo	346 gestantes com suspeita de infecção primária	IgG, IgM, avidez de IgG e PCR do líquido amniótico	(22)
Estudo prospectivo longitudinal	128 amostras clínicas (76 de líquido amniótico e 52 de placenta)	PCR, *kit* comercial *Toxoplasma* ELITe MGB (ELITech), *kit* comercial EXTRAblood e *kit* comercial QIA minikit	(2)
Estudo retrospectivo	65 pacientes com toxoplasmose congênita confirmada	PCR do líquido amniótico	(23)
Estudo retrospectivo	778 gestantes com avidez baixa ou indeterminada de IgG no primeiro trimestre de gestação	PCR em tempo real do líquido amniótico	(24)
Estudo de coorte prospectivo	469 gestantes com IgG positivo e IgM positivo ou indefinido	PCR do líquido amniótico, sangue materno e do neonato	(25)
Estudo retrospectivo	516 pacientes e 43 fetos/crianças com menos de 12 meses de vida com toxoplasmose congênita	PCR do líquido amniótico	(26)
Estudo observacional transversal	80 gestantes com toxoplasmose gestacional	PCR de líquido amniótico e placenta e/ou inoculação em camundongo	(9)
Estudo prospectivo	500 amostras de sangue materno e cordão umbilical	IgG, IgM e PCR (se sorologia positiva)	(27)

teste de avidez de IgG, que resulta em baixa avidez (<30%) para os casos cuja infecção ocorreu nas últimas 12 semanas e alta avidez (>60%) para aqueles ocorridos há mais de 12 semanas.[28] Nos casos de infecção materna aguda ou nos casos de exames sorológicos com alta suspeita de infecção adquirida durante a gestação, deve-se fazer a amniocentese e a PCR – exame que apresenta boa acurácia e que se tornou procedimento de escolha no diagnóstico da infecção fetal.[14] Em um estudo realizado com 12 neonatos, a toxoplasmose congênita foi confirmada em 50% destes pela PCR positiva para o *T. gondii* no sangue periférico coletado até 15 dias após o nascimento.[12] Cabe ressaltar que em um dos neonatos a PCR positiva foi o primeiro exame que confirmou o diagnóstico de toxoplasmose congênita, o que permitiu o início do tratamento antiparasitário a fim de minimizar as consequências da doença.

A sensibilidade e especificidade dos testes usados para a investigação da infecção fetal tem sido relatada na literatura. Em estudo realizado em Israel com fetos e/ou crianças com menos de 12 meses de vida com toxoplasmose congênita, a sensibilidade da PCR juntamente com o teste de IgM foi de 93%.[26] Em outro estudo, conduzido com neonatos infectados e não infectados, a sensibilidade geral da PCR convencional e em tempo real foi de 82,6%.[17] Achados de outro estudo

comparativo incluem sensibilidades de 81% para PCR do material placentário, 58% para inoculação em camundongos e 15% para cultura celular.[13] Por outro lado, uma sensibilidade inferior, correspondendo a 54%, mas especificidade superior (de 100%) foi relatada em um estudo realizado na França. A sensibilidade variou de 33% a 68% quando o diagnóstico antenatal foi positivo e negativo ou ausente, respectivamente. Os autores relacionaram tais diferenças na sensibilidade ao tratamento antenatal dos casos diagnosticados.[18]

Alguns estudos têm evidenciado a importância de combinar os resultados do teste de avidez de IgG no sangue materno e PCR do líquido amniótico e sangue do neonato para o diagnóstico de toxoplasmose gestacional/congênita. Entre eles, um estudo realizado no Japão relatou PCR positiva do líquido amniótico da amniocentese pré-natal ou no parto, ou no sangue do neonato. Mais de 50% dos casos investigados (7/12) foram diagnosticados como tendo toxoplasmose congênita, e tinham baixa avidez de IgG.[25] Outro estudo, realizado com 346 gestantes sob suspeita de infecção primária pelo *T. gondii,* mostrou que a PCR do líquido amniótico foi negativa em apenas um dos 15 neonatos infectados com o protozoário.[22] Os autores relacionam os resultados da PCR negativa à falha do teste, erradicação do parasito pelo tratamento antes da amniocentese e transmissão placentária tardia resultando na transmissão do protozoário após a amniocentese. Ademais, outro estudo evidenciou a transmissão vertical da toxoplasmose em 28% (7/25) das pacientes com anticorpos IgM positivo, através da realização da PCR e testes sorológicos nos recém-nascidos.[20]

Apesar de a técnica de PCR ter sido utilizada como exame complementar para diagnóstico confirmatório da infecção congênita, existem algumas inconsistências na literatura. Em estudo realizado em um hospital público do Rio de Janeiro, a PCR apresentou resultado negativo nas sete gestantes em que foi realizada, sendo inconclusiva para avaliação da sua eficácia.[14] A PCR também foi negativa quando usada para triagem da toxoplasmose congênita/gestacional em pacientes cuja sorologia foi positiva para anticorpos IgG e IgM.[27] Em outro estudo retrospectivo realizado na Itália com 778 pacientes no primeiro trimestre de gestação, com avidez de IgG baixa ou indeterminada, a PCR do líquido amniótico foi positiva em apenas duas, sendo que, destas, o diagnóstico de toxoplasmose congênita foi confirmado em uma. Isso pode ter ocorrido porque as pacientes estavam em tratamento.[24] Em outro estudo, a PCR foi positiva no líquido amniótico em apenas 6,2% (9/146) das pacientes com IgG com baixa avidez.[15]

Ainda nesse contexto, os resultados de uma metanálise acerca da realização da PCR em líquido amniótico reforçam que estudos sobre ensaios de PCR para toxoplasmose fetal são geralmente suscetíveis a viés.[21] A falta de padronização da PCR para *Toxoplasma* devido à diversidade de métodos desenvolvidos em laboratório representa um obstáculo para o diagnóstico da toxoplasmose congênita. No Brasil, além da falta de padronização dos testes, a falta de obrigatoriedade em triar componentes sanguíneos para toxoplasmose em gestantes é um grave problema enfrentado no Sistema Único de Saúde. Ademais, existem poucos grupos de estudo no Brasil em área básica, para realização de pesquisas em genômica e proteômica de cepas de *T. gondii*, para o *design* de novos métodos diagnósticos, drogas parasiticidas e de um modelo vacinal para humanos e animais.[1,2,14]

No entanto, uma PCR positiva usando líquido amniótico ou sangue do cordão umbilical confirma a toxoplasmose congênita, constituindo o teste biológico mais informativo para o diagnóstico da doença no pré-natal. Ressalta-se que as mulheres grávidas devem ter um acompanhamento sorológico mensal, direcionando para a amniocentese e PCR quando uma infecção primária for documentada.[2]

Outro aspecto que deve ser destacado refere-se ao tipo de PCR. A PCR em tempo real é uma metodologia rápida, sensível e quantitativa de detecção do *T. gondii* em amostras clínicas. Este método pode ser usado para estimar a concentração de parasitos no fluido corporal e, no caso de líquido amniótico, é capaz de contribuir precocemente para o prognóstico da toxoplasmose congênita.[29] No entanto, cabe ressaltar que há relatos na literatura de pacientes IgM-negativos com PCR positiva, o que pode implicar falsa positividade ou ocorrência de parasitemia na fase crônica da doença.[16]

Os três tipos de PCR (*nested*, convencional e em tempo real) foram testados em um estudo. Dentre os achados, observou-se que a PCR em tempo real não foi mais sensível que a convencional. Ambas apresentaram sensibilidade de 88% e especificidade de 100%, ao passo que a *nested*-PCR (*kit* comercial) apresentou sensibilidade menor que 50%, demonstrando que os padrões dos kits comerciais não devem se basear no DNA pré-extraído, mas devem ter como objetivo avaliar o desempenho do método de extração e da própria PCR.[16] Similarmente, a PCR em tempo real também não apresentou melhor sensibilidade em comparação à convencional em outro estudo realizado com neonatos com infecção congênita e não infectados.[17] Desta forma, mais estudos são necessários para explorar o potencial dessa técnica no diagnóstico da toxoplasmose.

CONCLUSÃO

A otimização de um rastreamento para a toxoplasmose depende de fatores como o investimento na prevenção primária nas mulheres soronegativas, antes e durante a gravidez, rastreamento mensal da mulher soronegativa, diagnóstico acurado de infecção fetal e terapêutica adequada para cada caso, estudo evolutivo do recém-nascido infectado até prova de que não está infectado e estudo evolutivo correto nas crianças com infecção comprovada. Com estas ações, a prevenção primária, secundária e o diagnóstico e tratamento da toxoplasmose congênita estariam completos.

Diversos estudos nacionais e internacionais demonstraram a importância da utilização da PCR para o diagnóstico confirmatório da toxoplasmose congênita. O pré-natal é muito importante no acompanhamento de uma gestante com toxoplasmose aguda, pois melhora consideravelmente o prognóstico de latentes infectados. A triagem materna para a detecção precoce da toxoplasmose é uma importante ferramenta que permite a adoção de medidas profiláticas e/ou terapêuticas, reduzindo a taxa de transmissão vertical e danos ao desenvolvimento do feto. A PCR constitui-se de um instrumento valioso, no entanto o diagnóstico da toxoplasmose ainda é baseado na sorologia.

Apesar de muitos estudos terem utilizado a PCR para o diagnóstico confirmatório da toxoplasmose gestacional/congênita nos últimos anos, a comparação de seus resultados está sujeita a vieses em virtude da prevalência da toxoplasmose na população amostrada, do período da coleta de amostras, realização de tratamento pela gestante, do tipo da amostra e técnica de PCR utilizada. Não obstante, as técnicas moleculares se encontram em constante avaliação, e sendo assim, apesar de ser ainda cedo para determinar uma técnica padrão-ouro diferente da sorologia, a PCR é um método promissor que pode complementar os resultados sorológicos e nortear a conduta clínica.

REFERÊNCIAS

1. Figueiro-Filho EA, Lopes AHA, Senefonte FRA, Júnior VGS, Botelho CA, Figueiredo MS, et al. Toxoplasmose aguda: estudo da frequência, taxa de transmissão vertical e relação entre os testes diagnósticos materno-fetais em gestantes em estado da Região Centro-Oeste do Brasil. Rev Bras Ginecol Obstet. 2005;27(8):442-9.
2. Robert-Gangneux F, Brenier-Pinchart MP, Yera H, Belaz S, Varlet-Marie E, Bastien P. Evaluation of *Toxoplasma* ELITe MGB realtime PCR assay for diagnosis of toxoplasmosis. J Clin Microbiol. 2017;55:1369-76.
3. Moraes CL, Mendonça CR, Arruda JT, Melo NC, Tacon FSA, Amaral WN. Infecção congênita – diagnóstico e tratamento materno-fetal. Res Society Development 2020;9(8): e137984965.
4. Wallon M, Franck J, Thulliez P, Huissoud C, Peyron F, Garcia-Meric P, et al. Accuracy of real-time polymerase chain reaction for *Toxoplasma gondii* in amniotic fluid. Obstet Gynecol. 2010;115:727-33.
5. Foulon W, Naessens A, Ho-Yen D. Prevention of congenital toxoplasmosis. J Perinat Med. 2000;28:337-45.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Protocolo de Notificação e Investigação: Toxoplasmose gestacional e congênita [recurso eletrônico]/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2018. 31 p.
7. Jones JMD, Lopez AMHS, Wilson MMS. Congenital toxoplasmosis. Am Family Physician 2003;67:2131-8.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Atenção à Saúde do Recém-Nascido: Guia para os Profissionais de Saúde. 2a ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2014.
9. Lahmar I, Lachkhem A, Babba O, Slama D, Trabelsi A, Passebosc-Faure K, Dardé ML, Babba H. First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* strains from human congenital toxoplasmosis cases in Monastir, Tunisia. Scientific Reports 2020;10:1963.
10. Remington JS, MCleod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis infectious disease of the fetus and newborn infant. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006.
11. Wallon M, Peyron F, Cornu C, Vinault S, Abrahamowicz M, Kopp CB, et al. Congenital toxoplasma infection: monthly prenatal screening decreases transmission rate and improves clinical outcome at age 3 years. Clin Infect Dis Soc Am. 2013;56:1223-31.
12. Stekers Y, Ribot J, Albaba S, Issert E, Bastien P, Pratlong F. Diagnosis of congenital toxoplasmosis by polymerase chain reaction on neonatal peripheral blood. Diagn Microbiol Infect Dis. 2011;71(2):174-6.
13. Rashad AG. Polymerase chain reaction in the diagnosis of congenital toxoplasmosis: More than two decades of development and evaluation. Parasitol Res. 2011;108(3):505-12.
14. Pessanha TM, Carvalho M, Pone MVS, Júnior SCG. Abordagem diagnóstica e terapêutica da toxoplasmose em gestantes e as repercussões no recém-nascido. Rev Paul Pediatr. 2011;29(3):341-7.
15. Yamada H, Nishikawa A, Yamamoto T, Mizue Y, Yamada T, Morizane M, Tairaku S, Nishihira J. Prospective study of congenital toxoplasmosis screening with use of IgG avidity and multiplex nested PCR methods. J Clin Microbiol. 2011;49(7):2552-6.
16. Morelle C, Varlet-Marie E, Brenier-Pinchart MP, Cassaing S, Pelloux H, Bastien P, et al. Comparative assessment of a commercial kit and two laboratory-developed PCR assays for molecular diagnosis of congenital toxoplasmosis. J Clin Microbiol. 2012;50(12):3977-82.
17. Torres E, Rivera R, Cardona N, Sanchez V, Lara F, Gómez-Marin JE. Evaluation og IgG anti-*Toxoplasma* avidity and polymerase chain reaction in the postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. Pediatr Infect Dis J. 2013;32(6):693-5.
18. Filisetti D, Year H, Villard O, Escande B, Wafo E, Houfflin-Debarge V, Delhaes L, Bastien P. Contribution of neonatal amniotic fluid testing to diagnosis of congenital toxoplasmosis. J Clin Microbiol. 2015;53(5):1719-21.
19. Prusa AR, Kasper DC, Pollak A, Olischar M, Gleiss A, Hayde M. Amniocentesis for the detection of congenital toxoplasmosis: results from the nationwide Austrian prenatal screening program. Clin Microbiol Infect. 2015;21(2):191e1-8.
20. Silva MG, Vinaud MC, Castro AM. Prevalence of toxoplasmosis in pregnant women and vertical transmission of *Toxoplasma gondii* in patients from basic units of health from Gurupi, Tocantins, Brazil, from 2012 to 2014. Plos One 2015;10(11):e0141700.
21. Azevedo CTO, Brasil PE, Guida L, Moreira MEL. Performance of polymerase chain reaction analysis of the amniotic fluid of pregnant women for diagnosis of congenital toxoplasmosis: a systematic review and meta-analysis. PLoS One 2016;11(4):e0149938.

22. Findal G, Helbig A, Haugen G, Jenum PA, Pedersen BS. Management of suspected primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in Norway: twenty years of experience of amniocentesis in a low-prevalence population. BMC Pregnancy Childbirth 2017;17:127.
23. Diesel AA, Zachia SA, Müller ALL, Perez AV, Uberti FAF, Magalhães JAA. Follow-up of toxoplasmosis during pregnancy: ten-year experience in a university hospital in Southern Brazil. Rev Bras Ginecol Obstet. 2019;41(9):539-47.
24. Tomasoni LR, Messina G, Genco F, Scudeller L, Prestia M, Spinoni V, Bonfanti C, Prefumo F, Castelli F,Meroni, V. Risk of congenital toxoplasmosis with low or indeterminate anti-*Toxoplasma* IgG avidity index in the first trimester of pregnancy: an observational retrospective study. Clin Microbiol Infect. 2019;25(6):761-e9.
25. Yamada H, Tanimura K, Deguchi M, Tairaku S, Morizane M, Uchida A, Ebina Y, Nishikawa A. A cohort study of maternal screening for congenital *Toxoplasma gondii* infection: 12 years' experience. J Infect Chemother. 2019;25(6):427-30.
26. Kahan Y, Avidar M, Gottesman BS, Riklis I, Dveyrin Z, Dalal I, Meir M, Glikman D, Bilavsky E, Sherman G, Shehadeh S, Tasher D. Characterization of congenital toxoplasmosis in Israel: a 17-year nationwide study experience. Pediatr Infect Dis J. 2020;39(6):553-9.
27. Al-Yami F, Dar FK, Yousef AI, Al-Qurouni BH, Al-Jamea LH, Rabaan AA, Quiambao JV, Arulanantham ZJ, Woodman A. A pilot study on screening for gestacional/congenital pregnant women at delivery in the Eastern Province of Saudi Arabia. Saudi Pharmaceutical J. 2021;29(4):343-50.
28. Montoya JG, Rosso F. Diagnosis and management of toxoplasmosis. Clin Perinatol 2005;32:705-26.
29. Lopez A, Dietz VJ, Wilson M, Navin TR, Jones JL. Preventing congenital toxoplasmosis. MMWR Recomm Rep. 2000;49:59-68.

Mecanismo de resistência da bactéria *Acinetobacter Baumannii* e suas implicações no controle das infecções hospitalares

Mechanism of resistance of Acinetobacter Baumannii *bacteria and its implications in control of hospital infections*

Yamine Maia de Queiroz[1], *Isaura Abreu Maciel*[1], *Fabiolla da Silva dos Santos*[2]

[1] Biomédica - Pós-graduanda. Escola Superior da Amazônia (ESAMAZ). Belém, PA, Brasil.

[2] Doutora em virologia. Escola Superior da Amazônia (ESAMAZ). Belém, PA, Brasil.

Resumo

O gênero *Acinetobacter* spp. surgiu como patógeno hospitalar oportunista, com numerosos surtos hospitalares. O gênero *Acinetobacter* spp. compreende até 31 espécies, entre elas a espécie Acinetobacter baumannii que é responsável por cerca de 80% das infecções, as quais podem se espalhar de forma epidêmica entre os pacientes hospitalizados e gravemente doentes. A espécie A. baumannii pode estar presente no ambiente hospitalar em máquinas de diálise; nos ventiladores mecânicos; nos monitores de pressão arterial; nos sistemas de ventilação; nas fontes de água; na pele e mucosas dos profissionais de saúde e dos doentes; nas preparações medicamentosas e até nos desinfetantes. Uma ampla variedade de objetos de uso do paciente, como cama, travesseiro, aparelho de televisão e de som, tem sido encontrada contaminada com *Acinetobacter*, podendo servir como reservatórios durante um surto nosocomial. Para manter resistência, a bactéria deve sofrer alteração no seu material genético, o que poderá ocorrer de duas formas: indução de mutação no DNA ou processo de transformação. Os principais mecanismos de resistência são a alteração da permeabilidade, alteração do sítio de ação do antimicrobiano, bomba de efluxo e mecanismo enzimático pela produção de beta-lactmases, sendo que os principais processos ocorrem por meio de conjugação, transformação e transdução.

Palavras-chave: *Acinetobacter baumannii*; Infecção Hospitalar; Resistência Microbiana a Medicamentos

Abstract

The genus *Acinetobacter* spp emerged as an opportunistic hospital pathogen, with numerous hospital outbreaks. The genus Acinetobacter spp. comprises up to 31 species, among them the species Acinetobacter baumannii is responsible for about 80% of infections which can spread epidemically among hospitalized and seriously ill patients. A. baumannii may be present in the hospital environment on dialysis machines; mechanical fans; blood pressure monitors; ventilation systems; in water sources; on the skin and mucous membranes of health professionals and patients; in drug preparations and even disinfectants. A wide variety of objects for use by the patient, such as bed, pillow, television and stereo, have been found contaminated with *Acinetobacter* and can serve as reservoirs during a nosocomial outbreak. To maintain resistance, the bacterium must undergo changes in its genetic material, which may occur in two ways: mutation induction in DNA or transformation process. The main resistance mechanisms are the change in permeability, alteration of the antimicrobial action site, efflux pump and enzymatic mechanism by the production of β-lactmases, and the main processes occur through conjugation, transformation and transduction.

Keywords: Acinetobacter baumannii; Hospital Infection Control Program; Drug Resistance, Bacterial

Correspondência
Yamine Maia de Queiroz
Escola superior da Amazônia (ESAMAZ) - Unidade Arcipreste
Rua Arcipreste Manoel Teododo, 820 – Batista Campos
Belém – PA, CEP: 66015-040
E-mail: yamimaia@gmail.com

Recebido em 23/01/2021 | Aprovado em 04/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202098

INTRODUÇÃO

O gênero *Acinetobacter spp.* surgiu como patógeno hospitalar oportunista, com numerosos surtos hospitalares. O gênero *Acinetobacter spp.* compreende até 31 espécies, entre elas a espécie *Acinetobacter baumannii*, responsável por cerca de 80% das infecções, a qual pode se espalhar de forma epidêmica entre os pacientes hospitalizados e gravemente doentes. *Acinetobacter* são bacilos ou cocobacilos aeróbios Gram-negativos que pertencem à família *Moraxellaceae*.[1] Eles são onipresentes e podem sobreviver em superfícies secas por até um mês, aumentando a probabilidade de pacientes serem colonizados e equipamentos médicos serem contaminados. *A. baumannii* são não fermentadores de glicose, capazes de sobreviver por longos períodos no ambiente nosocomial, fator este que favorece sua propagação hospitalar.[2]

Esta bactéria apresenta mecanismos que facilitam a colonização de pacientes e de equipamentos hospitalares, como a formação de biofilmes por ação das proteínas da membrana bacteriana externa, que são aglomerados de microrganismos protegidos por uma matriz polimérica e se aderem a superfícies sólidas quando em contato com material líquido.[3] As células que se ligam irreversivelmente a superfícies começam a divisão celular, em microcolônias, e produzem os polímeros extracelulares que definem um biofilme e representam um grave problema para a saúde pública em razão do aumento da resistência dos organismos associados.[4] A formação de biofilmes pode ser considerada um processo clinicamente relevante devido a quatro fatores: (1) eles são mais resistentes aos agentes antimicrobianos; (2) podem ser uma fonte de infecção persistente; (3) são capazes de abrigar organismos patogênicos e (4) permitem a troca de plasmídeos de resistência. A maioria dos isolados clínicos deste patógeno é suscetível a muitos antibióticos disponíveis, incluindo beta-lactâmicos, como carbapenéns.[5]

No entanto, este microrganismo apresenta uma elevada capacidade de desenvolver resistência contra antibióticos, o que resultou em uma elevação da incidência de cepas multirresistentes desta bactéria e associação com altos índices de mortalidade.[6] Antibióticos beta-lactâmicos são uma opção terapêutica importante no tratamento de infecções por *A. baumannii*, em razão da sua eficácia e à possibilidade de potencialização de sua ação, por modificação química.[7] Dentre os beta-lactâmicos, destacam-se os carbapenens (imipeném e meropeném), fármacos com amplo espetro de ação. As cepas resistentes à vasta maioria dos beta-lactâmicos, incluindo carbapenéns, põe em foco o potencial deste patógeno em responder rapidamente a mudanças de pressão seletiva ambiental.[8]

Os mecanismos de resistência do *A. baumannii* podem ter origem intrínseca ou adquirida e são mediados por diversos fatores, como perda da permeabilidade da membrana, mais expressivamente a produção de beta-lactamases, enzimas que degradam antibióticos beta-lactâmicos, sendo a principal causa de resistência bacteriana.[9] O mecanismo de resistência bacteriano mais importante e frequente é a degradação do antimicrobiano por enzimas que se localizam no espaço periplasmático, como exemplo as beta-lactamases que inativam os agentes beta-lactâmicos. São várias as classes de beta-lactamases e as do tipo OXA são amplamente mencionadas em vários estudos no mundo. Um dos genes que codifica a produção de oxacilinases (OXA), o *blaOXA-51*, é usado como marcador da espécie *A. baumannii*. Outros genes também são encontrados, como o *bla*OXA-24/40 e *bla*OXA-58 de relevância na resistência intrínseca desse gênero.[10] Portanto, Conhecer a sua taxonomia; os genes mais relevantes como *bla*OXA-51 e *bla*OXA-23, sua habilidade de formar biofilme; os mecanismos de interação com o hospedeiro; as recomendações dos órgãos fiscalizadores e os tratamentos preconizados atualmente é essencial para identificar maneiras mais eficientes de combater e controlar o referido microrganismo, que está entre as principias bactérias multirresistentes no mundo, tornando necessária a pesquisa e a descoberta de novos fármacos para tratamentos mais eficientes para os pacientes, principalmente aqueles assistidos em centros de tratamento intensivo.[5]

Sendo assim, o objetivo desse trabalho é descrever as características e os aspectos fisiológicos da espécie *Acinetobacter spp.*, apresentar os mecanismos de resistência da *Acinetobacter* e descrever medidas no controle das infecções hospitalares.[2]

MATERIAL E MÉTODOS

Nesta pesquisa, de caráter descritivo e exploratório, serão consultados artigos através das bases de dados Scientific Eletronic Library online (SciELO), *National Library of Medicine* (PubMed), e realizadas buscas de artigos científicos relacionados à resistência bacteriana em ambiente hospitalar, entre o período de 2015 a 2020, utilizando as palavras-chave: *Acinetobacter baumannii*, infecção hospitalar e resistência a antimicrobiano.

Taxonomia e Fisiologia

O microrganismo do gênero *Acinetobacter* passou por várias revisões taxonômicas, sendo atualmente classificado na família *Moraxellaceae*. É um bacilo Gram-negativo, que se apresenta como cocobacilos, é não seletivo, imóvel, aeróbio, não formador de esporos, e pode apresentar cápsula e fímbrias para adesão e formação de biofilmes.[11]

Sua história taxonômica teve início em 1911, por um cientista alemão, que descobriu novas seis espécies isoladas do solo, nomeando-as *Micrococcus calcoaceticus*.[12] No entanto, com o passar dos anos, novas bactérias com características semelhantes foram descritas e, então, classificadas em cerca de 31 espécies e gêneros diferentes de *Acinetobacter, como Acinetobacter calcoaceticus, A. baumannii, A. haemolyticus, A. junii, A. johnsonii, A. lwoffii, A. radioresistens* e outras espécies não denominadas. Recentemente, duas novas espécies foram descritas e denominadas como *A. ursingii sp. nov. e A. schindleri sp. nov*.[13] Dentre as espécies descritas, *A. baumannii* tem sido a mais encontrada em amostras clínicas, especialmente relacionada com infecções hospitalares.[14]

Transmissão

Acinetobacter spp. são frequentemente transmitidos aos pacientes através da persistência nas superfícies ambientais e colonização transitória das mãos dos profissionais de saúde.[15] Dentre as *Acinetobacter spp.*, a espécie *A. baumanni* é um patógeno oportunista associado a surtos de infecções nosocomiais, com incidência mais elevada em unidades de terapia intensiva (UTIs).[16]

A principal forma de transmissão do *Acinetobacter* ocorre por contato direto ou indireto. Contato direto: transferência física de microrganismos entre o hospedeiro suscetível e a pessoa infectada ou colonizada durante procedimentos como mudança de decúbito, banho no leito e verificação de pressão arterial. Contato indireto: transferência por meio de um objeto contaminado (reservatório), por exemplo, material contaminado como luvas, máquinas de diálise, ventiladores mecânicos, sistemas de ventilação; nas fontes de água; na pele e mucosas.[15]

Estudos de Rock et al.[17] mostram que esta espécie é capaz de sobreviver por longos períodos em objetos inanimados, superfícies situadas em imediações próximas ao paciente debilitado, podendo ser transmitida diretamente ou por meio das mãos dos profissionais de saúde ou, ainda, ser passada de paciente para paciente. Surtos de *Acinetobacter* têm sido atribuídos particularmente à terapia respiratória e aos equipamentos de ventilação e infecção cruzada pelas mãos de trabalhadores de saúde que cuidaram de pacientes colonizados ou infectados (Figura 1).

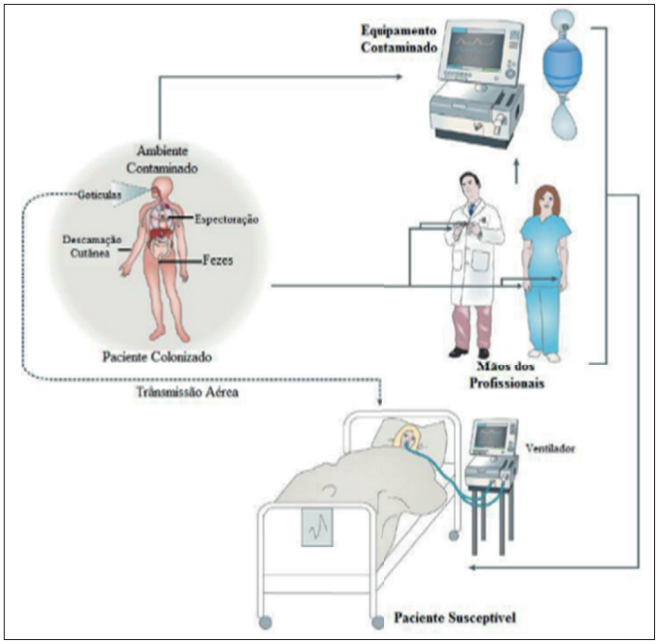


Figura 1

Apresentando as formas de transmissão.

Fonte: Adaptado https://alagoasreal.blogspot.com/2011/07/admission-screening-disinfection. 2011.

Formação de biofilme

Os biofilmes são microrganismos acumulados protegidos por uma matriz polimérica e se fixam a superfícies sólidas em contato com material líquido. As células que aderem a essas superfícies iniciam sua divisão celular e produzem polímeros extracelulares que definem um biofilme.[11]

Os biofilmes podem representar um grande problema para a saúde pública devido ao aumento da resistência dos organismos associados. As evidências de biofilmes sobre dispositivos médicos veio por meio de estudos em que os dispositivos foram examinados após a remoção dos doentes.[18] A formação de biofilmes pode ser considerada clinicamente relevante em razão de fatores como: são resistentes aos agentes antimicrobianos; podem se tornar uma fonte de infecção persistente; podem abrigar organismos patogênicos e permitem a troca dos plasmídeos.[19]

A formação de biofilmes é uma grande preocupação, pois podem se formar em instrumentos de uso hospitalar e ser compostos por múltiplas bactérias que segregam ampla gama de fatores de virulência. Com isso a estrutura do biofilme torna o tratamento químico difícil e leva à resistência a antimicrobianos.[20]

Perfil ou mecanismo de resistência bacteriana

Para Darren et al.[11] e Noto et al.[21] o principal desafio do tratamento de infecções por *Acinetobacter* centra-se na superação da resistência aos antibióticos. *A. baumannii* possui elevada versatilidade nutricional e metabólica, permitindo a sua adaptação a múltiplos ambientes. Os patógenos oportunistas como *A. baumannii* raramente são aptos para causar uma infecção devido à eficiência da resposta imune inata do hospedeiro.

Com o passar do tempo e a descoberta de novos estudos a bactéria tornou-se mais resistente a antimicrobianos devido a fatores como alteração nos sítios de ligações a esses fármacos, produção de proteínas que hidrolisam e os modificam, alteração nas ligações proteicas com penicilinas, perdas de proteínas na membrana externa e a produção de beta-lactamases, enzimas que tem a capacidade de hidrolisar antimicrobianos beta-lactamâmicos. Pode sobreviver em superfícies inanimadas e secas por vários meses, tem bom crescimento em altas temperaturas e variações de pH.[22]

A escolha do tratamento antimicrobiano deve considerar a história do paciente, a síndrome clínica e os testes de sensibilidade aos antimicrobianos. A terapia antimicrobiana deve considerar os dados de resistência bacteriana. Alguns estudos sugerem que o uso de ampicilina em altas doses no tratamento de *Acinetobacter* multirresistente apresenta resultados equivalentes a carbapenêmicos mesmo em pneumonias associadas à ventilação mecânica de início tardio, razão pela qual esse antimicrobiano tem sido utilizado como opção para tratamento dessa bactéria, o que permite evitar o uso de carbapenêmicos.[23]

Porém tem havido resistência crescente do *Acinetobacter à* ampicilina, e nestes casos os antimicrobianos carbapenêmicos são normalmente considerados como a última alternativa para o tratamento de escolha de infecções causadas por *Acinetobacter*, principalmente com a emergência de resistência a outros beta-lactâmicos.[24]

Fatores de riscos no ambiente hospitalar

Bactérias do gênero *Acinetobacter spp*. apresentam habilidade de crescimento em ambientes como solo e água, pode sobreviver em superfícies inanimadas e secas por vários meses, têm bom crescimento em altas temperaturas e variações de pH.[25] No ambiente hospitalar, esta bactéria forma biofilmes em instrumentos médicos, em destaque: estetoscópio, termômetro, torniquetes, nebulizadores, umidificadores, circuito de respirador, dentre outros, e superfícies como bancadas e leitos de centros hospitalares, como unidades de tratamento intensivo – UTIs**.**[26]Além disso, podem acometer pacientes imunocomprometidos que recebem tratamentos mais complexos, em unidades de tratamento intensivo, queimados, com ferimentos ou doenças de base graves.[27]

Diagnóstico

O diagnóstico da infecção por *Acinetobacter* é feito em ambiente hospitalar, visto que a maioria das pessoas que apresentam essa infecção estão internadas, através da coleta de amostra de sangue, de secreção traqueal e/ou de urina, que é enviada para o laboratório de microbiologia para que seja feita a análise.[26]

No diagnóstico é possível serem observadas características morfotintoriais após coloração pela metodologia de Gram, teste da oxidase, teste da catalase, teste de crescimento em caldo a 44ºC, e observar a produção de hemólise em ágar-sangue. *Acinetobacter* é composta por bactérias em formato de varetas curtas na fase logarítmica de crescimento, tornando-se, maioria das vezes, mais cocoides na fase estacionária, em que podem ocorrer agrupamento de células, variabilidade na coloração de Gram, assim como variações no tamanho da célula e arranjo, dentro de uma mesma cultura pura.[28]

Tratamento com o uso de antimicrobianos

Acinetobacter possui resistência a uma enorme variedade de antimicrobianos e uma grande capacidade para adquirir mecanismos de resistência a praticamente todos os antimicrobianos de uso comum, como penicilina, cefalosporinas de primeira e segunda geração, cloranfenicol, e resistência antimicrobiana à base de carbapenêmicos (por exemplo, imipeném e meropeném). Essa resistência aos carbapenêmicos em *Acinetobacter* pode ser mediada por um ou mais mecanismos, incluindo inativação enzimática, efluxo ativo, diminuição da permeabilidade da membrana e modificação dos sítios alvo de ligação aos antimicrobianos.[29]

As polimixinas são um grupo de antibióticos usados contra várias bactérias Gram-negativas. São constituídas por cinco substâncias, que receberam o nome de polimixinas A, B, C, D e E, sendo esta última chamada de colistina, produzida pelo Bacillus colistinus, entretanto somente as polimixinas B e E são utilizadas clinicamente, em virtude da grande toxicidade das demais.[30]

RESULTADOS

A revisão da literatura foi realizada em duas bases de dados, com os descritores "*Acinetobacter baumannii*""infecção

hospitalar" e "resistência a antimicrobiano", que contabilizaram 209 artigos, dos quais 100 foram encontrados na base de dados eletrônico *National Library of Medicine* (PubMed) e 109 na base de dados SciELO (*Scientific Electronic Library Online*). Foram utilizados os filtros idioma (inglês e português), espécie (humano) e ano (2015 a 2020) de publicação. Desses citados foram excluídos 194 artigos por não abordarem a temática da pesquisa e selecionados 15 artigos em síntese quantitativa para compor a revisão.

O Gráfico 1 apresenta o perfil das publicações selecionadas para a revisão de acordo com o ano e o quantitativo de trabalhos. Dos 15 estudos incluídos que foram selecionados entre os anos de 2015 a 2020, verificaram-se cinco (33,3%) de 2015, dois (13,3%) de 2016, cinco (33,3%) de 2017, um (6,7%) de 2018, um (6,7%) de 2019 e um (6,7%) de 2020.

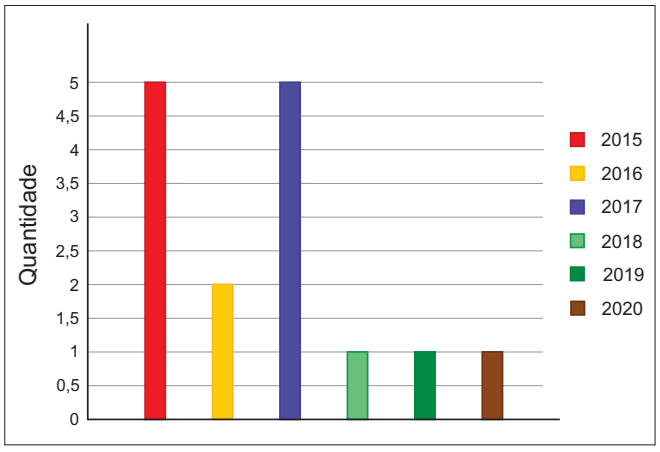


Gráfico 1

Material encontrado por ordem cronológica de publicação.

DISCUSSÃO

Acinetobacter baumannii vem assumindo um importante papel nos processos infecciosos com inúmeras infecções hospitalares no mundo, acarretando o aumento da morbidade e mortalidade de pacientes internados em unidade de terapia intensiva (UTI).[20] O uso extensivo de terapia antimicrobiana em hospitais tem contribuído para a seleção e o aumento no número de isolados de *A. baumannii* multirresistentes aos antimicrobianos, inclusive aos carbapenêmicos, dificultando o tratamento.[25]

Segundo o estudo de Noto *et al.*,[21] a resistência ao carbapeném entre isolados de *A. baumannii* aumentou drasticamente nos últimos anos devido ao surgimento e disseminação desse patógeno específico. Os sistemas bacterianos de multidrogas contribuem para o desenvolvimento de padrões de multirresistência de *A. baumannii*, um patógeno nosocomial de importância crescente devido à sua resistência emergente aos carbapenêmicos. O fenômeno de multirresistência é gerado por uma combinação de mecanismos que inclui inativação enzimática, efluxo ativo, diminuição da permeabilidade da membrana. Alharbe *et al.*[23] e Vanegas *et al.*[28] relatam um desses mecanismos que vem sendo considerado importante fator, que é o sistema de bomba de efluxo. Muitos desses isolados multirresistentes de *A. baumannii* abrigam genes para o sistema de efluxo de múltiplos fármacos, relacionados à resistência a vários grupos de agentes antibacterianos, incluindo ampicilina e meropeném. De acordo com Scarcella *et al.*[27] e Dalmasio,[29] as bombas de efluxo bacterianas transportam ativamente diversos antibióticos para fora da célula e são os principais contribuintes para a resistência intrínseca e aos muitos medicamentos que podem ser utilizados no tratamento de doenças infecciosas por Gram-negativas. Com isso a inibição desse sistema permitiria aumentar a eficácia desses antimicrobianos.

Vários autores como Viana *et al.*,[16] Trindade *et al.*[19] e Weber *et al.*[14] discutem sobre a formação de biofilmes, que é frequente em amostras clínicas de *A. baumannii* e é um requerimento importante para a colonização crônica de tecidos humanos e persistência em instrumentos médicos. Biofilmes microbianos que são comunidades envoltas em uma matriz extracelular são produzidos por várias bactérias. A habilidade de a *A. baumannii* crescer como biofilme em superfícies abióticas desempenha um importante papel em doenças infecciosas nosocomiais, devido à colonização de equipamentos hospitalares e dispositivos médicos, como cateteres urinários, cateteres venosos centrais, tubos endotraqueais e ventiladores mecânicos. É provável que os biofilmes contribuam nas interações de virulência da *A. baumannii* com seu hospedeiro.

De acordo com Leão *et al.*[15] e Kurihara *et al.*,[22] algumas características devem ser consideradas por estarem relacionadas aos fatores de risco para infecções dos pacientes por *A. baumannii*, por exemplo, tabagismo, alcoolismo, hipertensão, com maior frequência no sexo masculino, idade > 60 anos e com prevalências de doenças de base, incluindo diabetes mellitus, doenças cardiovasculares, doenças pulmonares como pneumonia grave, foram semelhantes e que apresentou mortalidade associada a infecção por *A. baumannii* de 75%. As durações totais de internação hospitalar também foram semelhantes com tempo de internação em UTI para tais

pacientes em mais de sete dias significativamente associadas a um prognóstico ruim por esses fatores.

Com base no estudo de Darren *et al.*[11] e Leão,[26] as investigações em surtos hospitalares por *A. baumannii* se revelam incapazes de identificar uma única fonte de contaminação, a qual então pode estar relacionada à resistência bacteriana, às condições do paciente, à presença do patógeno em equipamentos médicos ou à equipe de saúde. Todo esse conjunto dificulta a prevenção e o controle das infecções por *A. baumannii*. Pacientes colonizados e a contaminação do ambiente são os maiores reservatórios para a infecção, enquanto a prevenção inadequada e a transmissão cruzada são determinantes para persistência do *A. baumannii*. O uso de equipamentos exclusivos para os pacientes pode facilitar o controle de surtos, assim como a manutenção de um regime apropriado de higiene das mãos para os profissionais de saúde também é importante. Para prevenir o contágio, profissionais da saúde devem tomar precauções lavar as mãos como precauções de barreira, com cuidado e limpeza apropriada dos ventiladores mecânicos para pacientes colonizados ou infectados por *A. baumannii*.

CONCLUSÃO

A. baumannii está ganhando cada vez mais atenção e se mostrando como uma grande ameaça à saúde pública, uma vez que possui mecanismos poderosos de resistência inatos ou adquiridos contra muitos agentes antimicrobianos, ou seja, de se adaptar ao ambiente nosocomial e de resistir a desafios ambientais adversos, burlando as barreiras de proteção local. Os principais mecanismos de resistência são a alteração da permeabilidade, alteração do sítio de ação do antimicrobiano, bomba de efluxo e mecanismo enzimático pela produção de beta-lactmases, sendo que os principais processos ocorrem por meio de conjugação, transformação e transdução. Sendo assim, cada vez mais esforços e recursos científicos serão necessários para estudos epidemiológicos e de controle de infecção relacionada à *A. baumannii*, evitando assim graves infecções nosocomiais e surtos descontrolados em ambiente clínico.

REFERÊNCIAS

1. Silva MFP. Revisão sobre Acinetobacter baumannii: epidemiologia molecular e opções terapêuticas disponíveis em Portugal. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina da Universidade do Porto; 2018.
2. Lopes MC, Évora BS, Cidral TA, Botelho LB, Melo MC. Bacteremia por Acinetobacter radioresistens: primeiro relato de caso no Brasil. J. Bras. Patol. Med. Lab. 2019;55(6):669-674. doi.org/10.5935/1676-2444.20190059.
3. Gomes DB et al. Acinetobacter baumannii multirresistentes: emergência de resistência à polimixina no Rio de Janeiro. Visa em Debate. 2016;4(3):28-34. doi.org/10.22239/2317-269x.00732.
4. Bierhals CG et al. Avaliação da expressão relativa dos genes envolvidos na formação de biofilme por Acinetobacter baumannii. Revista Brasileira de Biociências, 2018;16(3).
5. Machado MC. Perfil de doentes infetados com Acinetobacter baumannii em um hospital privado de Vitória da Conquista-Bahia-Brasil. Tese de Doutorado. Instituto de Higiene e Medicina Tropical; 2018.
6. Simões AS. Contribuição do efluxo para a aquisição de resistência aos antibióticos em isolados clínicos de Acinetobacter baumannii. Tese de Doutorado. Instituto de Higiene e Medicina Tropical; 2016.
7. Loureiro RJ, Roque F, Rodrigues AT, Herdeiro MT, Ramalheira E. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. Rev. Port. Sau. Pub. 2016;34(1):77-84. doi.org/10.1016/j.rpsp.2015.11.003.
8. Évora BH. Susceptibilidade aos antibióticos e aos biocidas clorexidina e cloreto de benzalcônio em isolados clínicos de Acinetobacter baumannii. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2019.
9. Rocha L, Pagano M, Campos JC, Sampaio JLM, Martins AF, Barth AL. Carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii in Brazil: susceptibility profile and diversity of oxacillinases. J. Bras. Patol. Med. Lab. 2017;53(6):358-361. doi.org/10.5935/1676-2444.20170057.
10. Schuenck RP. Epidemiologia molecular e caracterização da resistência de amostras de Acinetobacter baumannii e Pseudomonas aeruginosa resistentes aos carbapenêmicos provenientes de hospitais da Grande Vitória-ES. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo; 2018.
11. Darren W, Travis BN, Robert AB, Paul P, Brian L. Clinical and Pathophysiological Overview of Acinetobacter Infections: a Century of Challenges. Clin Microbiol Rev. 2017Jan;30(1):409–447. doi: 10.1128 / CMR.00058-16.
12. Oliveira SC. Estudo da monitorização farmacocinética de amicacina no tratamento de infeções nosocomiais por Acinetobacter baumannii. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra; 2015.
13. C Cangussu EWS. Importância do Acinetobacter baumannii no ambiente hospitalar. J. Biotechnol. Biodivers. 2020;8(1):41-46. doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v8n1.cangussu.
14. Weber BS, Harding CM, Feldman MF. Pathogenic Acinetobacter: from the cell surface to infinity and beyond. J Bacteriol. 2015;198(6):880–887. doi:10.1128/JB.00906-15.
15. Leao AC, Menezes PR, Oliveira MS, Levin AS. Acinetobacter spp. are associated with a higher mortality in intensive care patients with bacteremia: a survival analysis. BMC Infect Dis. 2016Aug9;16:386. doi:10.1186/s12879-016-1695-8.
16. Viana RE, Santos SG, Oliveira AC. Recovery of resistant bacteria from mattresses of patients under contact precautions. American Journal of Infection Control. 2016;44(4):465-469. doi: 10.1016/ j.ajic.2015.10.027.
17. Rock C, Harris AD, Johnson JK, Bischoff WE, Thom KA. Infrequent air contamination with Acinetobacter baumannii of air surrounding known colonized or infected patients. Infect Control Hosp Epidemiol. 2015;36(3):830–832. doi:10.1017/ice.2015.68.
18. Borges RM, Nunes CP. Infecções por acinetobacter baumannii em unidades de terapia intensiva. Revista de Medicina de Família e Saúde Mental. 2019;1(2):45-56.
19. Trindade M, Vieira CD, Ferreira JF, Sousa JK, Haddad JPA, Farias JF, et al. Dynamic of Biofilm Formation on Surgical Clamps by Staphylococcus aureus and Acinetobacter baumannii Strains. British Journal of Medicine and Medical Research. 2017;19(7):1–9. doi:org/10.9734/BJMMR/2017/31167.

20. Vieira PB, Picoli SU. Acinetobacter baumannii Multirresistente: Aspectos Clínicos e Epidemiológicos. Revista Brasileira de Ciências da Saúde, 2015;19(2):151–156. doi: 10.4034/RBCS.2015.19.02.10.
21. Noto MJ, Boyd KL, Burns WJ, Varga MG, Peek RM Jr, Skaar EP. Toll-like receptor 9 contributes to defense against Acinetobacter baumannii infection. Infect Immun. 2015;Oct;83(10):4134–4141. doi:10.1128/IAI.00410-15.
22. Kurihara MNL, Sales RO, Silva KE, Maciel WG, Simionatto S. Multidrug-resistant Acinetobacter baumannii outbreaks: a global problem in healthcare settings. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2020;53:1-13. doi.org/10.1590/0037-8682-0248-2020.
23. Alharbe R, Almansour A, Kwon DH. Antibacterial activity of exogenous glutathione and its synergism on antibiotics sensitize carbapenem-associated multidrug resistant clinical isolates of Acinetobacter baumannii. International Journal of Medical Microbiology. 2017;307(7):409–414. doi.org/10.1016/j.ijmm.2017.07.009.
24. Mendes GF et al. Acinetobacter baumannii isolados em amostras de pacientes pediátricos internados em um hospital especializado em doenças infectocontagiosas. Brazilian Journal of Health Review, 2020;3(6):16849-60. doi.org/10.34119/bjhrv3n6-116.
25. Pagano M, Martins AF, Barth AL. Mobile genetic elements related to carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii. Brazilian Journal of Microbiology. 2016;47(4):785–792. doi:10.1016/j.bjm.2016.06.005.
26. Leão AC. Impacto das bacteremias por Acinetobacter spp. em relação a bacteremias causadas por outras bactérias na sobrevida de pacientes internados em unidade de terapia intensiva. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo; 2015.
27. Scarcella A, Scarcella AS, Berretta A. Infeccção relacionada a assistência a saúde associada a Acinetobacter baumannii: revisão de literatura. RBAC, 2017;49(1):18-21. doi: 10.21877/2448-3877.201600361.
28. Vanegas-múnera M, Roncancio-villamil G, Jiménez-quiceno J. Acinetobacter baumannii: importancia clínica, mecanismos de resistencia y diagnóstico. Rev CES Med 2019;28(2):233-246.
29. Dalmasio MRS. Aspectos epidemiológicos da espécie Acinetobacter baumannii no controle de infecções relacionadas à assistência à saúde: uma revisão da literatura. 2018. Disponível em:http://hdl.handle.net/1843/ICBB-BDASU4.
30. Rigatto, MH. Polimixina B em comparação com outros antibióticos no tratamento da pneumonia e traqueobronquite associadas à ventilação mecânica causadas por Pseudomonas aeruginosa ou Acinetobacter baumannii. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2011.

O exame parasitológico de fezes frente a campanhas de desparasitação em massa – novos desafios e alternativas

The parasitological stool examination in front of mass deworming campaigns - new challenges and alternatives

Yvanna Louise Di Christine Oliveira[1], *Silvio Santana Dolabella*[2]

[1] Farmacêutica e Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Sergipe. Doutoranda em Ciências Farmacêuticas. São Cristovão, SE, Brasil.

[2] Farmacêutico e Doutor em Parasitologia pela Universidade Federal de Minas Gerais. Atualmente Professor Associado da Universidade Federal de Sergipe. São Cristovão, SE, Brasil.

Resumo

Com a ampliação e a frequência das campanhas de desparasitação contra os geo-helmintos *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, ancilostomídeos e *Strongyloides stercoralis*, ocorreu, como esperado, a redução da prevalência e da morbidade associada a estas parasitoses. Entretanto, alterações no perfil parasitológico das populações com redução dos helmintos e aumento significativo das protozooses intestinais se tornaram evidentes em todo o mundo. Além disso, a redução de carga parasitária tem dificultado o diagnóstico de rotina por meio de técnicas microscópicas de baixa sensibilidade. Neste artigo trazemos atualizações sobre algumas técnicas diagnósticas, como a Técnica de Sedimentação Espontânea em Tubo (SSTT), FLOTAC/Mini-FLOTAC e a otimização do método de Kato-Katz, além de alternativas viáveis para aumentar a sensibilidade dos métodos e tornar o diagnóstico das parasitoses intestinais mais preciso.

Palavras-chave: Helmintíase; Quimioprevenção; Técnicas de Laboratório Clínico

Abstract

With the expansion and increased frequency of deworming against soil-transmitted helminths Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura, hookworms and Strongyloides stercoralis, there was, as expected, a reduction in the prevalence and morbidity associated with these diseases. However, changes in the parasitological profile of populations, with a reduction in helminths and a significant increase in intestinal protozoa, became evident worldwide. In addition, the reduction in the parasitic burden has made routine diagnosis difficult through low-sensitivity microscopic techniques. In this article we bring updates on diagnostic techniques, such as spontaneous sedimentation technique in tube (SSTT), FLOTAC/Mini-FLOTAC and optimization of Kato-Katz technique, as well as viable alternatives to increase the sensitivity of methods and make the diagnosis of intestinal parasites more accurate.

Keywords: Helminthiasis; Mass Drug Administration; Clinical Laboratory Techniques

Correspondência
Silvio Santana Dolabella
Universidade Federal de Sergipe
Laboratório de Entomologia e Parasitologia Tropical,
Departamento de Morfologia, CCBS/UFS.
Av. Marechal Rondon, s/n - B. Jardim Rosa Elze
São Cristóvão, Sergipe. CEP 49.100-000.
E-mail: dolabellaufs@gmail.com

Recebido em 03/07/2021 | Aprovado em 07/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202162

INTRODUÇÃO

Os geo-helmintos *Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura*, ancilostomídeos e *Strongyloides stercoralis* são os causadores mais comuns de helmintíases nas regiões tropicais e subtropicais. A prevalência destas infecções depende de fatores ecológicos e climáticos que favoreçam o ciclo de vida de cada espécie de parasito, bem como de elementos sociocomportamentais que contribuam para a sua disseminação.[1] Até 2017 estimava-se que 513 milhões de pessoas no mundo estavam infectadas com algum tipo de geo-helminto e cerca de 835 milhões necessitavam de quimioterapia profilática.[2]

Em 2003, a Organização Mundial da Saúde (OMS) começou a concentrar medidas de controle para 19 doenças tropicais negligenciadas (DTNs) visando as necessidades de saúde de comunidades carentes. Isso ocasionou a introdução da quimioterapia preventiva, visando otimizar o uso de medicamentos em dose única em larga escala e oferecendo aos pacientes uma alternativa para reduzir a extensa morbidade associada à fibrose linfática, à oncocercose, ao tracoma, às geo-helmintíases e às esquistossomoses, entre outras doenças.[2]

A administração da quimioterapia profilática abrange grupos considerados de risco para as morbidades associadas a estas doenças, como crianças em idade escolar, gestantes e adultos em profissões de risco, como mineiros e agricultores.[3] A recomendação é que os anti-helmínticos sejam administrados sem diagnóstico individual prévio para pessoas em risco que vivem em áreas endêmicas. A frequência anual de tratamento é recomendada quando a prevalência da infecção por qualquer geo-helminto na comunidade estiver entre 20% e 50%, em casos nos quais a prevalência for superior a 50%, o tratamento semestral é indicado.[3]

No Brasil, os grupos de risco atendidos por estas campanhas compreendem apenas as crianças, pois a desparasitação foi integrada aos programas de saúde realizados nas escolas da rede pública de ensino.[4] Desta forma, as escolas fornecem um importante ponto de entrada para as atividades de desparasitação, além de proporcionar fácil acesso a componentes de educação sobre saúde e higiene.[3]

A meta global era reduzir a carga parasitária e a morbidade ocasionadas por geo-helmintos em crianças até 2020, com o objetivo de promover o tratamento regular de pelo menos 75% das crianças em áreas endêmicas até o fim do prazo estipulado.[3] Entretanto, até o final de 2019 apenas 22% dos países envolvidos nesta campanha alcançaram a meta proposta, sendo que outros 20%, incluindo o Brasil, não forneceram dados suficientes para a avaliação da cobertura.[5] Assim, o prazo acabou sendo ampliado para 2030 e o controle do parasito *S. stercoralis*, com administração de ivermectina, foi introduzido como objetivo da campanha.[3]

Com a ampliação e a frequência das campanhas de desparasitação ocorreu, como esperado, a redução da prevalência e da morbidade associada a estas parasitoses devido à redução da carga parasitária nos indivíduos infectados.[6] O que não foi discutida anteriormente, e se mostrou evidente, foi a mudança no perfil epidemiológico das populações devido à redução das helmintíases com concomitante aumento das protozooses intestinais,[7,8] que apresentam potencial de causar tanto danos à saúde dos pacientes quanto às helmintíases.

No tocante ao diagnóstico, rotineiramente são utilizadas técnicas de sensibilidade limitada para estimar a carga parasitária e assim atestar a eficácia do tratamento quimioprofilático. Infelizmente, as técnicas utilizadas para o diagnóstico das parasitoses intestinais apresentam falhas nos casos em que há baixas quantidades de ovos nas fezes.[9] Destarte, novos desafios surgiram, pois métodos mais sensíveis se tornam necessários para o diagnóstico fidedigno destes pacientes. Assim, este estudo objetiva discutir as mudanças no perfil parasitológico em áreas endêmicas para geo-helmintíases e os desafios enfrentados pelos profissionais no diagnóstico destas doenças nesta nova realidade.

Quimioprofilaxia em massa: mudanças no perfil parasitológico das populações

A desparasitação em massa com foco no controle de geo-helmintos trouxe diversos benefícios para a população geral em razão da redução de morbidade e carga parasitária. Em diversas regiões do mundo foram realizados estudos epidemiológicos para avaliar a efetividade das campanhas. Na África, em Malawi, a taxa de infecção para qualquer geo-helminto foi inferior a 8% para a população geral e de 4,6% entre os escolares, que são o público-alvo das campanhas.[10] A redução foi reportada em outras regiões, como na África Subsaariana, onde a prevalência de geo-helmintos caiu de 44% para 18% no período de 18 anos, atribuída, dentre outros fatores, à quimioterapia profilática.[11].

Na Ásia, em Myanmar, a prevalência caiu significativamente de aproximadamente 28% para 9% para os geo-helmintos.[12] Já na Indonésia a queda foi de 19,6% para 6%.[13] Em países da América do Sul foram identificadas prevalências inferiores a 2% para *A. lumbricoides* e *T. trichiura* na Bolívia;[7] e de 7,4%, 4,5% e 0,4% para ascaridíase, tricuríase e ancilostomíase, respectivamente, no Brasil.[8]

Neste contexto surgiu outra problemática: o gradual, porém significativo, aumento da prevalência de protozooses intestinais. Este perfil tem sido observado em diferentes regiões do mundo, como na Bolívia e no Brasil, que reportaram grande aumento de *Blastocystis hominis* e *Entamoeba* spp. [7,8] em locais onde antes a prevalência era próxima a zero.

Na Burquina, país africano, a prevalência de protozoários intestinais foi maior que 80% entre as crianças, principalmente *Entamoeba histolytica/E. dispar*, *E. coli* e *Giardia lamblia*, enquanto a prevalência de geo-helmintos foi de 10,7%.[14] No Nepal, Ásia, isto também se tornou evidente, pois os parasitos mais encontrados entre escolares foram *G. lamblia* (46,8%), *E. histolytica/E. dispar* (23,4%) e *E. coli* (21,3%), enquanto os helmintos foram pouco encontrados (<2%).[15]

Esta mudança de perfil epidemiológico de diferentes populações que receberam tratamento quimioprofilático em massa levanta um importante ponto de discussão: o parasitismo se mantém devido às condições sanitárias as quais essas populações estão expostas. O fornecimento regular de água tratada (evitando o transporte e o armazenamento inadequados), o acesso a banheiros e a saneamento básico (com tratamento de esgoto), a higienização adequada de alimentos consumidos crus e a lavagem frequente de mãos com água e sabão antes das refeições e após a defecação são fatores protetivos contra parasitoses.[16]

Entretanto, isso ainda não é realidade em comunidades rurais e, mesmo em algumas áreas urbanas periféricas em países como o Brasil, o investimento em saneamento ainda é precário, o que expõe a população a diversos problemas de saúde como doenças diarreicas e parasitoses intestinais. No estudo de Medeiros e Ferreira,[17] que avaliou diversas cidades brasileiras quanto ao fornecimento adequado dos serviços de água e esgoto, apenas 20% destas cidades apresentaram serviços classificados como eficientes, com capitais onde a taxa de eficiência de saneamento foi de apenas 52%.[17]

Redução de carga parasitária e impacto sobre o diagnóstico

Muitos benefícios em saúde foram alcançados com o tratamento quimioprofilático para as geo-helmintíases, como a redução da morbidade, das hospitalizações e do DALY, do inglês *disability-adjusted life years,* que se refere aos anos de vida perdidos mais os anos de vida vividos com uma deficiência. Houve redução de até 68% de DALY, com impacto mais significativo no primeiro ano do programa de desparasitação no Vietnã.[18]

Mas, além dos impactos supracitados, outra mudança de importância médica é a redução da carga parasitária nos indivíduos infectados por helmintos intestinais. Em diversos estudos foram relatadas reduções na contagem de ovos após rodadas sucessivas de tratamento. No Congo, com uma cobertura de tratamento superior a 80%, em três anos a média da contagem de ovos de *A. lumbricoides* foi reduzida de 9.844 ovos por grama de fezes (opg) para 724 opg, a redução observada para *T. trichiura* foi de 1107 para 366 opg e os ancilostomídeos foram indetectáveis após o primeiro ano de tratamento.[19]

Em outro estudo, realizado no Kenya pelo período de três anos, a prevalência geral das geo-helmintíases caiu pela metade. Com relação à quantidade de ovos, para *A. lumbricoides* a redução foi de 1.659 para 960 opg, para *T. trichiura* de 33 para 17 opg e para ancilostomídeos de 63 para 33 opg. A redução relativa das infecções foi de 87% para ancilostomídeos, 42% para *A. lumbricoides* e 49,5% para *T. trichiura*.[20]

No tocante ao diagnóstico, esta mudança evidencia dificuldades intrínsecas aos laboratórios de análises clínicas: o diagnóstico correto utilizando técnicas microscópicas de baixa sensibilidade. Além da constante necessidade de treinamento e reciclagem dos laboratoristas e do investimento em controle de qualidade, é preciso considerar que o número de ovos excretados pelos parasitos e posteriormente identificados e/ou contados num exame parasitológico de fezes (EPF) depende de duas principais variantes: a excreção nas fezes e os fatores técnicos. A excreção depende de fatores biológicos que levam em consideração a relação parasito-hospedeiro e a oviposição.[21]

As diferentes espécies de geo-helmintos apresentam variados padrões de oviposição, com as fêmeas de *A. lumbricoides* liberando cerca de 200 mil ovos por dia, as de *T. trichiura* liberando até 20 mil e as de ancilostomídeos até 10 mil ovos.[22] Pode parecer muito, mas já foi demonstrado que o albendazol, utilizado rotineiramente nas campanhas de desparasitação, ocasiona alterações nos túbulos testiculares dos parasitos, promovendo infertilidade ou menor produção de ovos, muitas vezes com aumento da produção de ovos inférteis.[23] Todos esses fatores reduzem a oviposição e dificultam o diagnóstico.

No que diz respeito aos fatores técnicos, a técnica quantitativa mais utilizada nos laboratórios em razão do seu custo e por ser considerada padrão-ouro para a quantificação de ovos de *Schistosoma mansoni* e geo-helmintos é a técnica de Kato-Katz (KK), que consiste na estimativa do número de opg. [21] Diversos fatores influenciam na redução da sensibilidade desta técnica. Dentre eles podemos citar o armazenamento

das fezes por período superior a 24 horas;[24] a quantidade de fezes utilizada, que no KK é equivalente a 42mg de fezes, inferior a outros métodos quantitativos como o Mini-FLOTAC e o FLOTAC, que utilizam 100mg e 500mg de fezes, respectivamente; e o fator de multiplicação (FM), que para o KK é de 24 para que o número de ovos na amostra analisada seja equivalente ao encontrado em 1g de material fecal, superior ao Mini-FLOTAC (FM = 10) e FLOTAC (FM = 2), o que torna o KK mais estimativo. Todos esses fatores reduzem a chance de visualização de ovos na amostra utilizada e induzem a erros diagnósticos.[21]

Sensibilidade dos métodos diagnósticos e alternativas

Diferentes métodos parasitológicos apresentam diferentes sensibilidades devido às suas variações intrínsecas, o que pode alterar o diagnóstico a depender dos fatores supracitados. Atualmente, como preconizado pela Organização Mundial da Saúde, o método padrão-ouro para diagnóstico da esquistossomose e das geo-helmintíases é o KK, em razão da sua facilidade de utilização, ao baixo custo e à alta sensibilidade em áreas de alta endemicidade. Entretanto, quando as localidades são de moderada a baixa endemicidade (as cargas parasitárias são reduzidas e/ou a população recebeu quimioterapia profilática), a sensibilidade deste método é reduzida.[25,26]

Diante da sua ampla utilização, principalmente em áreas com recursos limitados e onde é realizado o rastreio pós-tratamento em massa, muitos autores têm investigado formas de aumentar a sensibilidade do KK. É sabido que a coleta de múltiplas amostras fecais e o exame de pelo menos duas lâminas de cada uma delas pode melhorar o resultado e elevar a sensibilidade para mais de 90%.[25,26]

Outro estudo comprovou o aumento de prevalência em 23%, 26% e 100% para *A. lumbricoides, T. trichiura* e ancilostomídeos, respectivamente, com o exame de mais de uma amostra, com custo superior de apenas 31%.[27] Considerando os impactos ambientais e em saúde do subdiagnóstico (leia-se necessidade adicional de tratamento, aumento de morbidade e DALY's), o custo-benefício é bastante interessante e o diagnóstico preciso pode influenciar, inclusive, nas políticas públicas em saúde.

Ainda assim, diversos estudos no decorrer dos anos têm comparado os métodos diagnósticos a fim de definir qual o melhor a ser utilizado de acordo com as características da população em estudo, as condições financeiras, estruturais e logísticas de cada local e os recursos humanos disponíveis para a execução destes, pois não se pode definir qual a melhor técnica baseando-se em apenas um critério.[26]

Muitos métodos podem ser utilizados para o diagnóstico das geo-helmintíases além do KK, como métodos baseados em sedimentação/centrifugação (Hoffmann, Pons e Janer – HPJ, Ritchie, Blagg) e em flutuação (Faust). Entretanto, a desvantagem principal desses métodos é a impossibilidade de se quantificar os ovos e estimar a carga parasitária.[28] Neste caso, outras técnicas foram desenvolvidas para suprir esta necessidade, como o McMaster, o FECPAK, o FLOTAC/Mini-FLOTAC (métodos microscópicos) e a reação em cadeia da polimerase (PCR) (método molecular).

Porém, o teste mais utilizado nos laboratórios de análises clínicas ainda é o método HPJ, conhecido como método de Lutz ou sedimentação espontânea, que consiste na diluição das fezes em água destilada e na utilização da gravidade para a deposição dos detritos e das formas parasitárias no cálice de fundo cônico. Sua ampla utilização se dá em razão do baixo custo por teste realizado e da facilidade de manuseio e higienização dos materiais, que rapidamente podem ser reutilizados, além da possibilidade de se diagnosticar infecções por helmintos e protozoários.[29]

Apesar destas vantagens, o HPJ é considerado um método de baixa sensibilidade, o que exige dos profissionais maior esforço para o diagnóstico correto. Devido a isso, Tello et al.[30] propuseram uma adaptação deste método que não impactaria em custos e tornaria o método mais sensível: a técnica de sedimentação espontânea em tubo (*spontaneous sedimentation technique in tube*, SSTT). No SSTT, 10g de fezes é diluída em 10mL de solução salina e homogeneizada de 30 a 60 segundos. A amostra é filtrada diretamente para um tubo cônico e agitada vigorosamente por 30 segundos, antes de ser posicionada verticalmente para a sedimentação por 45 minutos. Após este tempo, o sedimento deve ser recolhido com pipeta plástica, transferido para duas lâminas e corado com lugol para análise. Desta forma, o SSTT se mostrou mais sensível que o exame direto a fresco e que os métodos de concentração em formol-éter e de flutuação em sulfato de zinco para todos os parasitos avaliados, com prevalências de até o dobro dos encontrados por estas técnicas.[30]

Devido à grande quantidade de amostras processadas, geralmente coletadas e/ou armazenadas incorretamente, o desconforto com o odor e a sujeira e por questões de biossegurança, foram desenvolvidos coletores adaptados que reduzem as etapas de processamento das amostras (diluição,

filtragem e posterior lavagem do material), como o Paratest®. São formas de otimização da técnica que reduz tempo e custo. Foi demonstrado que a sensibilidade diagnóstica é semelhante para ambos, com repetibilidade (concordância) quase perfeita. A exceção foi para *Blastocystis* sp., cujo diagnóstico pelo Paratest® foi melhor, e ancilostomídeos, que foi mais identificado pelo HPJ.[31]

Dentre os novos métodos microscópicos, o FLOTAC/Mini-FLOTAC mostrou alta eficiência, com sensibilidade superior a 80% para todos os parasitos,[9] principalmente quando a carga parasitária é mais baixa. Neste caso em particular, o FLOTAC/Mini-FLOTAC apresentou sensibilidade quase duas vezes maior que o KK (81,8% *vs.* 48,8%).[9]

Entretanto, esses dados variam de acordo com o estudo: Cools et al. mostraram que, mesmo com apenas uma lâmina, o KK foi superior ao Mini-FLOTAC para o diagnóstico de *A. lumbricoides* em indivíduos com baixa carga parasitária (55,6% *vs.* 42,1%). Isso não se repetiu para *T. trichiura* (79,6% *vs.* 85,6%) e ancilostomídeos (69,4% *vs.* 70,8%), mas os valores de sensibilidade foram bastante próximos. Além disso, a média do número de ovos em cada método foi bastante diferente para *A. lumbricoides* e ancilostomídeos, com o KK sendo superior para ambos (10.000 *vs.* 6.404 opg e 833 *vs.* 366 opg, respectivamente).[32]

A alternativa mais eficaz desenvolvida para o diagnóstico de diferentes patógenos foi o PCR. Suas vantagens são inúmeras, dentre elas a capacidade de amplificação de pequenas quantidades de DNA, o que permite correlação com a carga parasitária, diagnóstico preciso em pacientes com carga parasitária reduzida, identificação específica de espécies cuja morfologia é similar, como ancilostomídeos e *Entamoeba* spp., e a possibilidade de diagnóstico simultâneo de múltiplas infecções. Entretanto, as desvantagens também são claras, como a necessidade de profissionais qualificados para o desenvolvimento e interpretação da técnica, o alto custo associado e a necessidade de infraestrutura e equipamentos específicos para a realização do exame. Isto inviabiliza a utilização desta técnica como rotina diagnóstica, estando atualmente restrita à instituições de pesquisa.[26]

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com o exposto, pode-se identificar as dificuldades diagnósticas em regiões onde a população recebeu quimioterapia profilática por vários anos, como é o caso do Brasil. Os laboratórios de análises clínicas devem se atentar para isso e se atualizar no tocante à otimização ou mesmo à substituição das técnicas utilizadas na rotina. Sabe-se que nem sempre é possível utilizar métodos de alta sensibilidade, como o PCR, visto o alto custo de implantação e manutenção. No entanto, alternativas viáveis, as quais não impactariam sobremaneira no custo dos exames, podem ser implementadas, como a otimização dos métodos utilizados; utilização do SSTT no lugar do HPJ; coleta de múltiplas amostras em dias alternados; preparo e leitura de pelo menos duas lâminas; treinamento, reciclagem e capacitação periódica dos profissionais; elaboração e atualização de procedimentos operacionais padrão (POP's) de acordo com as sugestões da literatura; ou mesmo a adoção de novos métodos microscópicos com maior sensibilidade, como o FLOTAC. Desta forma, os diagnósticos se tornam mais precisos, mais eficientes e os pacientes podem ser corretamente tratados, impedindo a transmissão e a continuidade do ciclo infeccioso das geo-helmintíases.

REFERÊNCIAS

1. Jain SK, Dwivedi A, Shrivastava A, Vijayananth P, Vidyavardhini R, Venkatesh S. Prevalence of soil-transmitted helminthic infection in India in current scenario: a systematic review. J Commun Dis. 2016;48(2):24-35.
2. World Health Organization (WHO). Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: First WHO report on neglected tropical diseases. 2010. [acesso em 28 jul 2021]. Disponível em: https://apps.who.int/iris/handle/10665/44440.
3. World Health Organization (WHO). Soil-transmitted helminth infections. 2020a. [acesso em 28 jul 2021]. Disponível em: http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections.
4. Brasil. Informe Técnico Operacional: "V Campanha Nacional de Hanseníase, Verminoses, Tracoma e Esquistossomose". Brasília: Ministério da Saúde; 2017.
5. World Health Organization (WHO). Soil- transmitted helminthiasis: National coverage (%) of school-aged chlidren: 2019. 2020b. [acesso em 28 jul 2021]. Disponível em: https://apps.who.int/neglected_diseases/ntddata/sth/sth.html.
6. Mwandawiro C, Okoyo C, Kihara J, Simiyu E, Kepha S, Campbell SJ, et al. Results of a national school-based deworming programme on soil-transmitted helminths infections and schistosomiasis in Kenya: 2012-2017. Parasit Vectors. 2019;12(1):76.
7. Macchioni F, Segundo H, Gabrielli S, Totino V, Gonzales PR, Salazar E, et al. Dramatic decrease in prevalence of soil-transmitted helminths and new insights into intestinal protozoa in children living in the Chaco region, Bolivia. Am J Trop Med Hyg. 2015;92(4):794-6.
8. Oliveira YLDC, Oliveira LM, Oliveira YLM, Nascimento AMD, La Corte R, Geraldi RM, et al. Changes in the epidemiological profile of intestinal parasites after a school-based large-scale treatment for soil-transmitted helminths in a community in northeastern Brazil: Epidemiological profile after large-scale school-based treatment for STH. Acta Trop. 2020;202:105279.
9. Nikolay B, Brooker SJ, Pullan RL. Sensitivity of diagnostic tests for human soil-transmitted helminth infections: a meta-analysis in the absence of a true gold standard. Int J Parasitol. 2014;44(11):765-74.

10. Witek-McManus S, Simwanza J, Chisambi AB, Kepha S, Kamwendo Z, Mbwinja A, et al. Epidemiology of soil-transmitted helminths following sustained implementation of routine preventive chemotherapy: Demographics and baseline results of a cluster randomised trial in southern Malawi. PLoS Negl Trop Dis. 2021;15(5):e0009292.
11. Sartorius B, Cano J, Simpson H, Tusting LS, Marczak LB, Miller-Petrie MK, et al. Prevalence and intensity of soil-transmitted helminth infections of children in sub-Saharan Africa, 2000-18: a geospatial analysis. Lancet Glob Health. 2021;9(1):e52-e60.
12. Dunn JC, Bettis AA, Wyine NY, Lwin AMM, Tun A, Maung NS, et al. Soil-transmitted helminth reinfection four and six months after mass drug administration: results from the delta region of Myanmar. PLoS Negl Trop Dis. 2019;13(2):e0006591.
13. Staal SL, Hogendoorn SKL, Voets SA, Tepper RC, Veenstra M, de Vos II, et al. Prevalence of atopy following mass drug administration with albendazole: a study in school children on Flores Island, Indonesia. Int Arch Allergy Immunol. 2018;177(3):192-8.
14. Erismann S, Diagbouga S, Odermatt P, Knoblauch AM, Gerold J, Shrestha A, et al. Prevalence of intestinal parasitic infections and associated risk factors among schoolchildren in the Plateau Central and Centre-Ouest regions of Burkina Faso. Parasit Vectors. 2016;9(1):554.
15. Gupta R, Rayamajhee B, Sherchan SP, Rai G, Mukhiya RK, Khanal B, et al. Prevalence of intestinal parasitosis and associated risk factors among school children of Saptari district, Nepal: a cross-sectional study. Trop Med Health. 2020;48:73.
16. Njambi E, Magu D, Masaku J, Okoyo C, Njenga SM. Prevalence of Intestinal Parasitic Infections and Associated Water, Sanitation, and Hygiene Risk Factors among School Children in Mwea Irrigation Scheme, Kirinyaga County, Kenya. J Trop Med. 2020;2020:3974156.
17. Medeiros RVV, Ferreira, TC. The impact of inefficient and inadequate sanitation diseases on the average cost of hospital admissions in brazilian municipalities. Estudo & Debate. 2020; 27(2):88-107.
18. Debaveye S, Gonzalez Torres CV, De Smedt D, Heirman B, Kavanagh S, Dewulf J. The public health benefit and burden of mass drug administration programs in Vietnamese schoolchildren: Impact of mebendazole. PLoS Negl Trop Dis. 2018;12(11):e0006954.
19. Pion SDS, Chesnais CB, Weil GJ, Fischer PU, Missamou F, Boussinesq M. Effect of 3 years of biannual mass drug administration with albendazole on lymphatic filariasis and soil-transmitted helminth infections: a community-based study in Republic of the Congo. Lancet Infect Dis. 2017;17(7):763-9.
20. Okoyo C, Nikolay B, Kihara J, Simiyu E, Garn JV, Freeman MC, et al. Monitoring the impact of a national school based deworming programme on soil-transmitted helminths in Kenya: the first three years, 2012 - 2014. Parasit Vectors. 2016;9(1):408.
21. Levecke B, Anderson RM, Berkvens D, Charlier J, Devleesschauwer B, Speybroeck N, et al. Mathematical inference on helminth egg counts in stool and its applications in mass drug administration programmes to control soil-transmitted helminthiasis in public health. Adv Parasitol. 2015;87:193-247.
22. Bharti B, Bharti S, Khurana S. Worm Infestation: Diagnosis, Treatment and Prevention. Indian J Pediatr. 2018;85(11):1017-24.
23. Carneiro MB, Avelar BR, Archanjo AB, Martins IVF, Nunes LC, Scott FB. Microscopic alterations in Fasciola hepatica from sheep treated with albendazole. Rev Bras Parasitol Vet. 2019;28(1):33-9.
24. Bosch F, Palmeirim MS, Ali SM, Ame SM, Hattendorf J, Keiser J. Diagnosis of soil-transmitted helminths using the Kato-Katz technique: What is the influence of stirring, storage time and storage temperature on stool sample egg counts? PLoS Negl Trop Dis. 2021;15(1):e0009032.
25. Lamberton PH, Kabatereine NB, Oguttu DW, Fenwick A, Webster JP. Sensitivity and specificity of multiple Kato-Katz thick smears and a circulating cathodic antigen test for Schistosoma mansoni diagnosis pre- and post-repeated-praziquantel treatment. PLoS Negl Trop Dis. 2014;8(9):e3139.
26. Mbong Ngwese M, Prince Manouana G, Nguema Moure PA, Ramharter M, Esen M, Adégnika AA. Diagnostic techniques of soil-transmitted helminths: impact on control measures. Trop Med Infect Dis. 2020;5(2).
27. Liu C, Lu L, Zhang L, Bai Y, Medina A, Rozelle S, et al. More poop, more precision: improving epidemiologic surveillance of soil-transmitted helminths with multiple fecal sampling using the Kato-Katz technique. Am J Trop Med Hyg. 2017;97(3):870-5.
28. Carvalho GL, Moreira LE, Pena JL, Marinho CC, Bahia MT, Machado-Coelho GL. A comparative study of the TF-Test®, Kato-Katz, Hoffman-Pons-Janer, Willis and Baermann-Moraes coprologic methods for the detection of human parasitosis. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012;107(1):80-4.
29. Gonçalves AQ, Abellana R, Pereira-da-Silva HD, Santos I, Serra PT, Julião GR, et al. Comparison of the performance of two spontaneous sedimentation techniques for the diagnosis of human intestinal parasites in the absence of a gold standard. Acta Trop. 2014;131:63-70.
30. Tello R, Terashima A, Marcos LA, Machicado J, Canales M, Gotuzzo E. Highly effective and inexpensive parasitological technique for diagnosis of intestinal parasites in developing countries: spontaneous sedimentation technique in tube. Int J Infect Dis. 2012;16(6):e414-6.
31. Azevedo EP. Diagnóstico coproparasitológico em laboratório de análises clínicas: comparação de técnicas e custo de implantação. Rio de Janeiro [Graduação em Biomedicina] – Universidade Federal Fluminense; 2016.
32. Cools P, Vlaminck J, Albonico M, Ame S, Ayana M, José Antonio BP, et al. Diagnostic performance of a single and duplicate Kato-Katz, Mini-FLOTAC, FECPAKG2 and qPCR for the detection and quantification of soil-transmitted helminths in three endemic countries. PLoS Negl Trop Dis. 2019;13(8):e0007446.

Comparação do mecanismo de heterorresistência em *Serratia marcescens* por *time kill curve* frente ao meropeném

Comparison of heteroresistance mechanism in Serratia marcescens by time kill curve against meropenem

Hortência Biatriz de Melo Santana[1], *Andréa de Souza Monteiro*[2]

[1] Biomédica pela Universidade Ceuma. São Luís, MA, Brasil.

[2] Professora pesquisadora vinculada ao Programa de Mestrado em Biologia Microbiana da Universidade Ceuma. São Luís, MA, Brasil.

Resumo

Serratia marcescens pertence à Família *Enterobacteriaceae*, é Gram-negativa e anaeróbica facultativa, sendo bem distribuída na natureza; pode ser isolada como saprófita do solo e da água. Possui um significado clínico relevante, pois acarreta infecções nosocomiais e pulmonares em determinados setores da saúde, como unidades neonatais, maternidades e UTIs, além de sepse, meningite, choque endotóxico e infecções do trato urinário. O intuito desse estudo foi analisar o mecanismo de heterorresistência em linhagens sensíveis de *Serratia marcescens* diante das concentrações testadas de meropeném. As linhagens SR1 e SR2 apresentaram perfil heterorresistente, ao passo que a SR6 demonstrou ser não heterorresistente, com CIM elevado (32µg/mL). Os isolados de *Serratia marcescens* são suscetíveis ao meropenem, por testes de sensibilidade padrão, mas contêm subpopulações resistentes ao mesmo.

Palavras-chave: Bactérias Gram-Negativas; Biologia Celular; *Enterobacteriaceae*; Enterobacteriáceas Resistentes a Carbapenêmicos

Abstract

Serratia marcescens belongs to the Enterobacteriaceae family, it is optional anaerobic gram-negative, being well distributed in nature and it might be isolated as saprophytic from soil and water. It has a meaningful clinical significance, because it causes nosocomial and lung infections in certain healthcare sectors, such as neonatal units, maternity units and UTIs; septicemia, meningitis, endotoxin shock and urinary tract infections. The aim of this study was to analyze the mechanism of heteroresistance in susceptible strains of Serratia marcescens in the presence of the tested concentration of meropenem. The lineages SR1 and SR2 presented heteroresistant profile, while the SR6 showed to be nonheterorresistente, with CIM (32 µg/mL). The Isolates of Serratia marcescens are susceptible to meropenem, by standard sensitivity testing, but there are subpopulations resistant to it.

Keywords: Gram-Negative Bacteria; Cell Biology; Enterobacteriaceae; Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae

Correspondência
Hortência Biatriz de Melo Santana
Universidade Ceuma - Campus Renascença
Rua Josué Montello, nº 1, Renascença II
São Luís-MA - CEP 65.075-120
E-mail: bmd.hortencia@gmail.com

Recebido em 13/10/2020 | Aprovado em 23/09/2021 | DOI: 10.21877/2448-3877.202102071

1. INTRODUÇÃO

Serratia marcescens pertence à Família *Enterobacteriaceae*, é Gram-negativa e anaeróbica facultativa, sendo bem distribuída na natureza e podendo ser isolada como saprófita do solo e da água.[1] Possui significado clínico relevante, pois acarreta infecções nosocomiais e pulmonares em determinados setores da saúde, como unidades neonatais, maternidades e Unidade de Terapia Intensiva (UTI), além de sepse, meningite, choque endotóxico e infecções do trato urinário, por ser considerada uma bactéria oportunista em recém-nascidos, imunocomprometidos e pacientes intensivos, podendo estar presente em fontes contaminadas como soluções de infusão, desinfetantes, equipamentos médicos como broncoscópicos e laringoscópicos, ou mãos dos profissionais de saúde.[2,3]

O número de infecções causadas por *Serratia marcescens tem* aumentado em razão do desenvolvimento da resistência adquirida a diversos fármacos antimicrobianos, incluindo os carbapenêmicos, e por apresentar resistência intrínseca a alguns fármacos como, por exemplo, penicilinas, cefalosporinas, nitrofurantoína, macrólidos e colistina, proporcionando resultados que têm despertado o interesse pela pesquisa de linhagens multirresistentes a medicamentos (MDR – *Multidrug-Resistant*).[4]

A resistência aos fármacos antimicrobianos foi descrita pela primeira vez em 1947 em bactéria Gram-negativa *Haemophilus influenzae* e, quase 20 anos mais tarde, para estafilococos Gram-positivos.[5]

Mesmo com a diminuição no número de fármacos antimicrobianos ativos contra bactérias multirresistentes nas últimas três décadas, o meropeném está entre as primeiras escolhas nas infecções causadas por bactérias Gram-negativas pertencentes **às** famílias *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* e *Moraxellaceae*, por exemplo, e no tratamento empírico de infecções graves. Para alguns autores, o meropeném é um fármaco antimicrobiano da classe dos carbapenêmicos que possui amplo espectro de atividade antibacteriana.[6,7]

Diante disso, a resistência a determinado fármaco pode ser desencadeada por fenômenos de resistência específicos como a heterorresistência, que é definida pela presença de subpopulações resistentes dentro de uma população maior de microrganismos totalmente sensíveis a antimicrobianos.[8]

No entanto, o primeiro relato do termo "heterorresistência" data de 1970 e pode ser referida como "resistência heterogênea", "variação de resistência em toda a população" e "heterogeneidade de resposta a fármaco antimicrobiano".[5]

Estas subpopulações advêm do crescimento bacteriano em meio de cultura contendo concentrações de fármacos antimicrobianos superiores às Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs) iniciais do isolado, podendo também ser encontradas numa população sensível, subpopulações com CIMs superiores às concentrações originais, entretanto estes valores não indicam resistência, e sim heterogeneidade.[8]

Nesse contexto, são importantes pesquisas voltadas às linhagens em que, mesmo apresentando CIMs que as classificam como sensíveis a um determinado fármaco antimicrobiano, são detectadas subpopulações resistentes.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Proveniência e identificação das amostras

As amostras das linhagens sensíveis de *Serratia marcescens foram cedidas pelo Laboratório Cedro, localizado em São Luís-MA*. A identificação dos isolados bacterianos foi realizada pelo sistema Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight Mass. 31 Spectrometry (MALDI-TOF MS).

2.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima para o meropenem

Para os testes de seleção de clones heterorresistentes foi utilizado o método de evolução direta proposto, com modificações.[9]

Para os ensaios da CIM, foi utilizado o método da microdiluição em Caldo Muller Hinton (Difco, Detroit, MI, USA) de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2016), utilizando a placa de 96 poços (Kasvi).[8]

Para execução desse procedimento, foram utilizados os clones obtidos na concentração 1024µg/mL de meropeném das 3 linhagens bacterianas e ativados em *overnight* (24 horas) em meio Ágar Muller Hinton (Difco, Detroit, MI, USA) a 37ºC. Após a incubação, as bactérias foram diluídas em salina (NaCl a 0,85%), ajustada na escala de McFarland 0,5 (1,5 x 10^8 UFC/ml). O antibiótico meropeném foi preparado na concentração de 1024µg/mL de meropeném diluído em 5mL de Caldo Muller Hinton, filtrado em membrana estéril 0,22µm (Milipore Co., Bedford, MA, EUA) acoplada à seringa.

Seguiu-se então o preparado das placas, onde foi colocado em cada poço 100µL do Caldo Muller Hinton, depois mais 100µL do meropeném correspondente, 5µL do inóculo bacteriano e feita a diluição seriada, descartando 100 µL para obter um volume final de 100µL e uma concentração de 10^4 células/mL. Após o preparo das placas, estas foram incubadas a 37ºC por 24 horas. Após a incubação, os poços

foram monitorados para determinação da CIM pelo método visual de crescimento de bactérias.

As concentrações testadas foram: 2X CIM, 1X CIM, 0,5X CIM, 0,250X CIM, 0,125X CIM, 0,06125X CIM e 0, 0,03125X CIM para SR1 e SR2; 512X CIM, 256X CIM, 128X CIM, 64X CIM, 32X CIM, 16X CIM, 8X CIM e 4X CIM para SR6.

2.3 Ensaios de curva de tempo-morte (*time kill curve*) para o meropenem

Para a análise da curva de tempo-morte foram testadas diferentes concentrações de meropeném, nos clones de *S. Marcescens* que foram isolados a 1024µg/mL. Essas concentrações foram 0,06125X CIM, 0,03125X CIM, 0,01625X CIM, 16X CIM, 32X CIM e 64X CIM, equivalendo a uma ordem crescente da concentração de meropeném de 0,01625µg/mL; 0,03125µg/mL; 0,06125µg/mL para SR1 e SR2 e 16 µg/mL, 32 µg/mL e 64 µg/mL para SR6.

O inóculo foi preparado a partir da diluição da bactéria em salina, ajustada na escala de McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Em seguida foram preparados os tubos de crescimento bacteriano para as concentrações testadas e incubados a 37ºC na estufa bacteriológica.

Após esse processo, foram adicionados 900µL de salina (NaCl a 0, 85%) em 9 microtubos eppendorfs e adicionado 100µL da respectiva bactéria para realizar a diluição seriada (10^{-1} a 10^{-9}). Após esta etapa, foi realizada a inoculação da amostra por microgota, retirando 10µL dos microtubos eppendorfs respectivos às linhagens testadas, com as seguintes diluições: 10^{-1}, 10^{-3}, 10^{-5}, 10^{-7} e 10^{-9} para o plaqueamento e montagem da curva de tempo-morte. As colônias foram quantificadas em Log_{10} UFC/mL e plotadas em gráfico logarítmico. Esta quantificação foi utilizada para estimar a viabilidade celular dos clones tolerantes, obtidos a partir de 1024µg/mL de meropeném, até o tempo de 24 horas nas seguintes concentrações: 0,06125X CIM; 0,03125X CIM e 0,01625X CIM; 16X CIM; 32X CIM e 64X CIM.

Este procedimento foi realizado para cada tempo da curva, sendo os tempos analisados: 4 horas, 8 horas, 12 horas e 24 horas.

2.4 Aspectos Éticos

A presente pesquisa seguiu os preceitos éticos estabelecidos pelo Conselho Nacional de Saúde através da Resolução nº 466/12 que trata direta e indiretamente a pesquisa com seres humanos. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Ceuma, sob o Parecer nº 34939614.1.0000.5084.

3. RESULTADOS

3.1 Perfil de sensibilidade da *Serratia marcescens* ao meropeném

Os três isolados de *S. marcescens* SR1, SR2 e SR6 foram suscetíveis ao meropeném. Os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram 0,03µg/mL, 0,03µg/mL e 32µg/mL, respectivamente.

3.2 Curva de tempo-morte (*time kill curve*) para meropeném em isolados de *Serratia marcescens*

As linhagens SR1 e SR2, com perfil de heterorresistência, apresentaram viabilidade nas concentrações 0,06125X CIM, 0,03125X CIM e 0,01625X CIM até 8 horas expostos ao antibiótico, no entanto não houve crescimento celular (no tempo de 12 h) até o término do período experimental. Por outro lado, a linhagem SR6, mais resistente, demonstrou viabilidade nas concentrações 16X CIM, 32X CIM e 64X CIM até 12 horas, entretanto não houve crescimento bacteriano ao completar 24 horas.

O comportamento do isolado *S. marcescens SR1* heterorresistente demonstrou crescimento em todas as concentrações nas primeiras 4 horas com contagens de 2,34 Log_{10} UFC/mL (0,06125X CIM), 2, 47 Log_{10} UFC/mL (0,03125X CIM) e 2,95 Log_{10} UFC/mL (0,01625X CIM). Em 8 horas de experimento houve diminuição (0,06125X CIM e 0,03125X CIM) das colônias e permanência das mesmas (0,01625X CIM) com as quantidades equivalendo a 2,14 Log_{10} UFC/ mL, 2,36 Log_{10} UFC/mL e 2,95 Log_{10} UFC/mL, respectivamente. No entanto, ao completar 12 horas e 24 horas não houve mais crescimento bacteriano observável.

Por outro lado, o comportamento da linhagem *S. marcescens* SR2, também heterorresistente, apresentou colônias em 4 horas nas quantidades 2,14 Log_{10} UFC/mL (0,06125X CIM), 2,32 Log_{10} UFC/mL (0,03125X CIM) e 2,44 Log_{10} UFC/mL (0,01625X CIM). E no tempo de 8 horas observou-se um aumento em todas as concentrações testadas, equivalendo a 2,47 Log_{10} UFC/mL (0,06125X CIM), 2,69 Log_{10} UFC/mL (0,03125X CIM) e 2,77 Log_{10} UFC/mL (0,01625X CIM). Contudo, no tempo de 12 horas e 24 horas não houve crescimento bacteriano observável.

Em contrapartida, a linhagem *S. marcescens* SR6 apresentou maior crescimento nas primeiras 4 horas de 3,4 Log_{10} UFC/mL (16X CIM), 2,8 Log_{10} UFC/mL (32X CIM) e 2 Log_{10} UFC/mL (64X CIM); após 8 horas houve um declínio do crescimento (16X CIM e 32X CIM), obtendo como contagem as seguintes quantidades: 2 Log_{10} UFC/mL (16X CIM), 2,3 Log_{10} UFC/mL

(32X CIM), respectivamente, e 2 Log_{10} UFC/mL (64X CIM). Já no tempo de 12 horas observou-se um pequeno aumento de células viáveis em todas as concentrações testadas, a saber: 2,11 Log_{10} UFC/mL (16X CIM), 2,60 Log_{10} UFC/mL (32X CIM) e 3 Log_{10} UFC/mL (64X CIM). No tempo de 24 horas de período experimental não houve mais crescimento bacteriano observável.

Os isolados de subpopulações tolerantes de *S. marcescens SR1* e *S. marcescens SR2* comparadas na curva de tempo-morte mostraram um perfil semelhante até o tempo de 4 horas de ensaio. Estas linhagens também apresentaram um perfil de suscetibilidade ao meropeném após 12 horas de crescimento, sendo evidenciada a morte da cultura após este tempo, demonstrada pela perda de viabilidade celular. Tanto *S. marcescens* SR1 quanto *S. marcescens* SR2 apresentam um perfil heterorresistente devido ao retorno da suscetibilidade a CIM inicial ao meropeném, ao passo que a *S. marcescens* SR6, isolado não heterorresistente, com características de persistente, apresentou maior nível de crescimento com sobrevivência por até 12 horas nas concentrações testadas, em comparação com as linhagens heterorresistentes SR1 e SR2. No entanto, houve a morte da população, perda de 100% da viabilidade, no tempo final de 24 horas.

4. DISCUSSÃO

Diante da análise feita nesse estudo, esses resultados podem ser comparados com Cherkaoui et al.[10] ao ter evidenciado a heterorresistência ao antibiótico imipeném em isolados clínicos de *Haemophilus influenzae*, bactéria Gram-negativa oportunista, porém esta espécie tem sido raramente descrita frente a esse mecanismo. Vale ressaltar que a heterorresistência ao meropeném foi pela primeira vez detectada em *Staphylococcus* resistentes à meticilina.[11]

Também foram encontrados resultados semelhantes de heterorresistência, em que foram comparados por curva de tempo-morte[12] ao relatar a análise de subpopulações resistentes de *K. pneumoniae* frente à colistina (polimixina E).

Com relação a bactérias Gram-negativas, poucos são os estudos que avaliam a heterorresistência desses microrganismos aos antibióticos carbapenêmicos, como meropeném e imipeném. A espécie mais estudada é *K. pneumoniae*.[13] Adams-Sapper et al.[13] reportaram que linhagens de *K. pneumoniae*, produtoras da enzima KPC e heteroresistentes sobrevivem a concentrações bactericidas de imipeném de 8 a 32 vezes mais altas do que as linhagens selvagens. Os autores associaram a sobrevivência das células bacterianas a uma alta densidade celular (resistência ao imipeném de alto nível) sem aumento da expressão do gene bla_{KPC}.

Existem debates na comunidade científica sobre a relação de linhagens bacterianas heterorresistentes e sua associação ao fracasso do tratamento clínico com fármacos antibacterianos.[14-15] No entanto, neste estudo foi observado que o uso de uma monoterapia com meropeném *in vitro* para *S. marcescens,* que apresenta inicialmente um perfil sensível, pode exibir uma elevação da densidade populacional culminando na formação de subpopulações resistentes em concentrações crescentes de meropeném, e que, possivelmente, em uma situação clínica esse fenômeno poderia ocorrer, especialmente em sítios de infecção em que a densidade bacteriana pode ser alta, e a penetração de fármacos subótima pode involuntariamente levar à indução de resistência bacteriana e falha do tratamento.

5. CONCLUSÃO

Portanto, os isolados de *S. marcescens* que são suscetíveis ao meropeném, por testes de sensibilidade padrão, apresentaram subpopulações resistentes ao mesmo, cujas subpopulações são selecionadas diante de concentrações crescentes de meropeném. Sendo assim, os isolados SR1 e SR2 são heterorresistentes, pois retornaram à sua CIM inicial (0,03µg/mL), ao passo que o isolado SR6 é não heterorresistente, pois não retornou à sua CIM inicial (2µg/mL), mas apresentou uma CIM elevada, de 32µg/mL.

6. REFERÊNCIAS

1. González-Juarbe N, et al. Requirement for Serratia marcescens cytolysin in a murine model of hemorrhagic pneumonia. Infection and Immunity, v. 83, n. 2, p. 614-624, 2015. Disponível em:< http://iai.asm.org/content/83/2/614.full>. Acesso em: 22 ago. 2017.
2. Dasgupta S, et al. A case report on *Serratia marcescens*. Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences, v.5, n.75, p. 5603 5605, 2016. Disponível em:< https://jemds.com/latest-articles.php?at_id=11891>. Acesso em: 18 ago. 2017.
3. Schuppener LM, et al. *Serratia marcescens* Bacteremia: Nosocomial Cluster Following Narcotic Diversion, v. 38, n. 9, p. 1027-1031, 2017. Infection Control and Hospital Epidemioly. Disponível em:<https://doi.org/10.1017/ice.2017.137 >. Acesso em: 22 ago. 2017.
4. Moradigaravand D, et al. Recent independent emergence of multiple multidrug – resistant *Serratia marcescens* clone within the United Kingdom and Ireland, v. 26, n. 8, p. 1101-1109, 2016. Genome Research. Disponível em: < http://genome.cshlp.org/content/26/8/1101>. Acesso em: 28 ago. 2017.
5. El–Halfawy OM, Valvano MA. Antimicrobial heteroresistance: an emerging field in need of clarity. Clinical Microbiology Reviews, v. 28, n. 1, p. 191–207, 2015. Disponível em: <http://cmr.asm.org/content/28/1/191>. Acesso em: 4 abr. 2017.

6. Kongthavonsakul K, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of meropenem in children with severe infection. International Journal of Antimicrobial Agents, v. 48, n. 2, p. 151-157, 2016. Disponível em: < http://www.ijaaonline.com/article/S0924-8579(16)30116-9/fulltext >. Acesso em: 3 set. 2017.
7. Kong L, et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of meropenemKONG, L. et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of meropenem for the treatment of nosocomial pneumonia in intracerebral hemorrhage patients by monte carlo simulation. Annals of Pharmacotherapy, v .1, n. 1:1060028017719715, p. 1-6, 2017. Disponível em: < http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1060028017719715 >. Acesso em: 4 set. 2017.
8. Luz, Daniela Inocente. Heterorresistência e resistência adaptativa à polimixina B em isolados de enterobacteriaceae produtores de *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC). Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) — Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014. Disponível em: < http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/115008>. Acesso em: 3 fev. 2017.
9. Oz T, et al. Strength of selection pressure is an important parameter contributing to the complexity of antibiotic resistance evolution, v. 31, n. 9, p. 2387-2401, 2014. Molecular Biology and Evolution. Disponível em: < doi: 10.1093/molbev/msu191 >. Acesso em: 18 nov. 2017.
10. Cherkaoui A. et al. Imipenem heteroresistance in nontypeable Haemophilus influenzae is linked to a combination of altered PBP3, slow drug influx and direct efflux regulation, v. 23, n. 2, p. 118 e 9-118 e 19, 2017. Clinical Microbiology and Infection. Disponível em: <doi: 10.1016/j.cmi.2016.10.009>. Acesso em: 15 abr.2018.
11. Kayser FH, et al. Activity of meropenem, against gram-positive bacteria, v. 24, p. 101-112, 1989. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2808202>. Acesso em: 20 nov. 2017.
12. Band VI, et al. Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* exhibiting clinically undetected colistin heteroresistance leads to treatment failure in a murine model of infection, v. 9, n. 2, p.1-6, 2018. American Society for Microbiology. Disponível em: < doi: 10.1128/mBio.02448-17 >. Acesso em: 10 abr. 2018.
13. Adams-Sapper S, et al. Rapid induction of high-level carbapenem resistance in heteroresistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*, v. 59, n. 6, p. 3281-3289, 2015. Antimicrobial agents and chemotherapy. Disponível em: 10.1128/AAC.05100-14>. Acesso em: 24 maio. 2018.
14. Falagas M, et al. Heteroresistance: a concern of increasing clinical significance?, v. 14, n. 2, p. 101–104, 2008. Clinical Microbiology and Infection. Disponível em: < 10.1111/j.1469-0691.2007.01912.x >. Acesso em: 24 maio. 2018.
15. Satola SW, et al. Comparison of detection methods for heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*, with the population analysis profile method as the reference method, v. 49, n. 1, p. 177-183, 2011. Journal of Clinical Microbiology. Disponível em: < doi: 10.1128/JCM.01128-10 >. Acesso em: 24 maio. 2018.

A importância dos fatores associados a não adesão ao exame preventivo do câncer de colo uterino por mulheres brasileiras – revisão sistemática

The importance of factors associated with non-adherence to preventive screening for cervical cancer by Brazilian women – systematic review

Karoline Fernandes de Lima[1], Lilya Helena Casanova Pereira Melo[1], Lohanne Marques Gomes[1], Symara Rodrigues-Antunes[2], Danielle Cristinne Azevedo Feio[2]

[1] Biomédica. Centro Universitário Metropolitano da Amazônia (UNIFAMAZ). Belém-PA, Brasil.

[2] Biomédica. Doutora em Neurociências e Biologia Celular pela Universidade Federal do Pará. Professora - Centro Universitário Metropolitano da Amazônia (UNIFAMAZ). Belém-PA, Brasil.

Resumo

Objetivo: O presente estudo busca avaliar a importância da adesão ao exame de Papanicolaou no diagnóstico do Papilomavírus humano, bem como relatar as dificuldades e os fatores da não realização do mesmo por mulheres brasileiras. Métodos: revisão sistemática da literatura mediante busca de artigos indexados nas plataformas eletrônicas de dados PubMed, BVS-Brasil e SciELO, entre os anos de 2008 a 2018. Resultados: No total foram encontrados 1.458 artigos nas bases de dados selecionadas, foram excluídos 1.411 artigos, os quais se enquadraram nos critérios de exclusão, e 38 duplicatas. Ao final do total de artigos analisados foram incluídos 10 para a realização da síntese quali-quantitativa. Considerações finais: A partir dos artigos analisados pode-se observar que as diferenças entre raça, classe econômica, nível de escolaridade e estado civil mostram-se como fatores determinantes quando comparamos a diferença na adesão e acesso do exame de Papanicolaou entre as mulheres brasileiras. Faz-se necessária a utilização de ações, campanhas e estratégias para a melhoria na realização do exame, enfatizando a sua importância.

Palavras-chave: Detecção Precoce de Câncer; Neoplasia Intraepitelial Cervical; *Papillomaviridae*

Abstract

Objective: The present study aims to evaluate the importance of the adhesion of the Pap smear technique to the diagnosis of the human papillomavirus, as well as to report the difficulties and factors of noncompletion by Brazilian women. Methods: systematic review of the literature by searching articles indexed in the electronic platforms of data PubMed, BVS-Brazil and Scielo, between the years of 2008 to 2018. Results: In total, 1,458 articles were found in the selected databases, 1,411 articles were excluded, as these were included in the exclusion criteria and 38 duplicates. At the end of the total of analyzed articles, 10 were included for the accomplishment of the qualitative-quantitative synthesis. Final considerations: From the analyzed articles, it can be observed that the differences between race, economic class, schooling level and marital status are determining factors when comparing the difference in the adhesion and access of the Pap test among Brazilian women. It is necessary to use actions, campaigns and strategies for improving the exam, emphasizing the importance of taking the exam.

Keywords: Papillomaviridae; Cervix Neoplasms Prevention; Cervical Intraepithelial Neoplasia

Correspondência
Danielle Cristinne Azevedo Feio
Centro Universitário Metropolitano da Amazônia - UNIFAMAZ
Av. Visc. de Souza Franco, 72 - Reduto
Belém - PA, CEP 66053-000
E-mail: daniellefeio@yahoo.com.br

Recebido em 15/10/2020 | Aprovado em 23/09/2021 | DOI: 10.21877/2448-3877.202102072

INTRODUÇÃO

O *papilomavírus humano* (HPV) é reconhecido como o agente causador da infecção sexualmente transmissível (IST) mais frequente do mundo, e considerado o maior fator de risco associado ao câncer de colo de útero.[1] O câncer de colo de útero (CCU) possui progressão lenta, sendo necessários de 10 a 20 anos para se desenvolver a partir de uma infecção pelo vírus do papilomavírus humano (HPV), e deste modo os programas de rastreamento de lesões precursoras facilitam e auxiliam na diminuição das taxas de incidência e mortalidade da doença.[2]

No Brasil, atualmente, a mortalidade por câncer de colo de útero é bem menor do que costumava ser, o que se deve ao aumento da disponibilidade de estratégias de prevenção por meio do teste de Papanicolaou, também conhecido como Preventivo do Câncer do Colo de Útero (PCCU). O Brasil foi um dos pioneiros a utilizar o exame em programas de rastreamento, e o seu sucesso relaciona-se a fatores como acompanhamento adequado, qualidade na interpretação e coleta de material, além do tratamento das lesões; quando realizado de forma adequada, o exame é capaz de reduzir em até 90% os casos de CCU.[3]

Apesar da diminuição das taxas de mortalidade, de acordo com o Instituto Nacional de Câncer – INCA o câncer de colo de útero ainda está entre os três tipos mais comuns de câncer que afetam as mulheres, sendo a quarta maior causa de morte relacionada a câncer no Brasil, excluindo os de pele não melanoma. Foi estimado pelo INCA um risco de aproximadamente 15,43 casos a cada 100 mil mulheres, assim como a ocorrência de 16.370 novos casos de câncer de colo de útero para cada ano. Destaca-se o fato de que na Região Norte o câncer de colo é o primeiro mais incidente (25,62/100 mil), estando na segunda posição a Região Nordeste (20,47/100 mil), terceira posição a Centro-Oeste (18,32/100 mil), enquanto ocupa as últimas posições as regiões Sul (14,07/100 mil) e Sudeste (9,97/100 mil).[4]

O Sistema de Informação do Câncer de Colo do Útero (SISCOLO), por meio do Departamento de Informática do SUS (DATASUS) em conjunto com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), armazena informações coletadas, e através dele é possível fazer a avaliação de dados como a quantidade e qualidade da coleta, o perfil das mulheres que realizaram o exame e a prevalência de alterações. O SISCOLO é reconhecido como uma importante ferramenta de acompanhamento em ações contra o CCU, porém essa ferramenta ainda não consegue explicar o porquê da não adesão de muitas mulheres ao exame.[5]

Devido à carência de informações acerca das baixas taxas de realização do exame de Papanicolaou e às altas taxas de mortalidade por câncer de colo de útero no Brasil, o presente estudo tem como objetivo enfatizar a importância da realização da técnica de Papanicolaou, bem como relatar as dificuldades e os fatores relacionados à não adesão das mulheres brasileiras ao exame Papanicolaou.

MÉTODOS

Este estudo trata-se de uma revisão sistemática da literatura que foi realizada de acordo com as diretrizes do protocolo PRISMA (Principais Itens para Relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises).[6] A busca pelos artigos indexados utilizados no presente estudo ocorreu de janeiro a dezembro de 2019, nas plataformas eletrônicas de dados Nacional Library of Medicine (PubMed), Scientific Eletronic Library Online (SciELO) e na BVS-Brasil (Biblioteca Virtual em Saúde-Brasil).

Foram utilizados os seguintes descritores: "HPV prevention Brazil"; "Prevalência infecção HPV"; "HPV pap smear Brazil"; "HPV epidemiology Brazil"; "Papsmear Brazil". A seleção dos artigos incluídos na revisão foi feita de forma independente por três autores, para verificação dos estudos potencialmente relevantes, com a utilização de um quarto revisor quando não houve consenso. Todos os artigos identificados passaram por uma triagem com base na leitura do título, resumo e, posteriormente, foram selecionados para elegibilidade a partir da leitura na íntegra de cada artigo, aplicando sempre os critérios de exclusão e inclusão.

Os critérios de inclusão consistiram em: artigos com a temática abordada neste estudo, artigos originais, realizados em humanos, publicados entre os anos de 2008 a 2019 e nos idiomas português, inglês e espanhol. Já os critérios de exclusão foram: artigos em duplicatas, de revisão, de pesquisa em animais, fora dos idiomas descritos, dissertações, relatos de caso, carta ao editor, monografias, artigos que não abordassem a temática e não estavam disponíveis na íntegra.

Após a seleção os artigos foram analisados por intermédio dos seguintes destaques: Ano de publicação, quantitativo de mulheres participantes, faixa etária, variáveis associadas à não adesão e às principais características do estudo. Tal organização facilitou a análise dos dados e a busca de conteúdo acerca dos fatores associados à não adesão ao exame preventivo do câncer de colo uterino por mulheres brasileiras.

RESULTADOS

No total foram encontrados 1.458 artigos nas bases de dados, dos quais 733 no PubMed, 64 no SciELO e 688 na BVS; dentre estes, 38 eram duplicatas, e 1 artigo foi encontrado em outras fontes. Foram excluídos 1.410 artigos, pois estes se enquadraram nos critérios de exclusão, e ao final do total de artigos analisados foram incluídos 10 para a realização da revisão (Figura 1).

Em relação às informações retiradas dos 10 artigos qualificados para integrar os resultados da pesquisa, o Quadro 1 sintetiza-as com base nas principais características e destaques de cada um dos trabalhos.

DISCUSSÃO

O exame de Papanicolaou pode ser considerado como uma tecnologia relativamente simples, eficaz e de baixo custo para a prevenção do câncer cérvico-uterino e de suas lesões precursoras associadas ao HPV, no entanto, muitas mulheres ainda deixam de realizá-lo no Brasil. O estudo de Girianelli *et al.*[16] relatou que, entre 1980 e 2010, as regiões mais desenvolvidas do país, Sul e Sudeste, registraram uma queda da mortalidade por câncer cervical em mulheres residentes dessas regiões, ao passo que nas capitais das regiões Norte e Nordeste tal registro não ocorreu.

Tais achados corroboram com os resultados do estudo de Barbosa et al.[15], que demonstrou queda da mortalidade por câncer de colo de útero (CCU) entre os anos de 1996 a 2010, na proporção de 1,7% ao ano, com as maiores taxas de redução observadas para o Sul (variação percentual anual VPA = -3,9%), Sudeste (VPA = -3,0%) e Centro-Oeste (VPA = -2,0%); além disso, os estados do Norte e do Nordeste registraram o menor percentual de exames realizados entre os anos de 2011 a 2013.

A baixa adesão das mulheres residentes nas regiões Norte e Nordeste do Brasil aos programas de prevenção e a consequente não redução da mortalidade de CCU podem estar associadas aos possíveis problemas estruturais desses programas, uma vez que, de acordo com os dados PNAD,[17] as

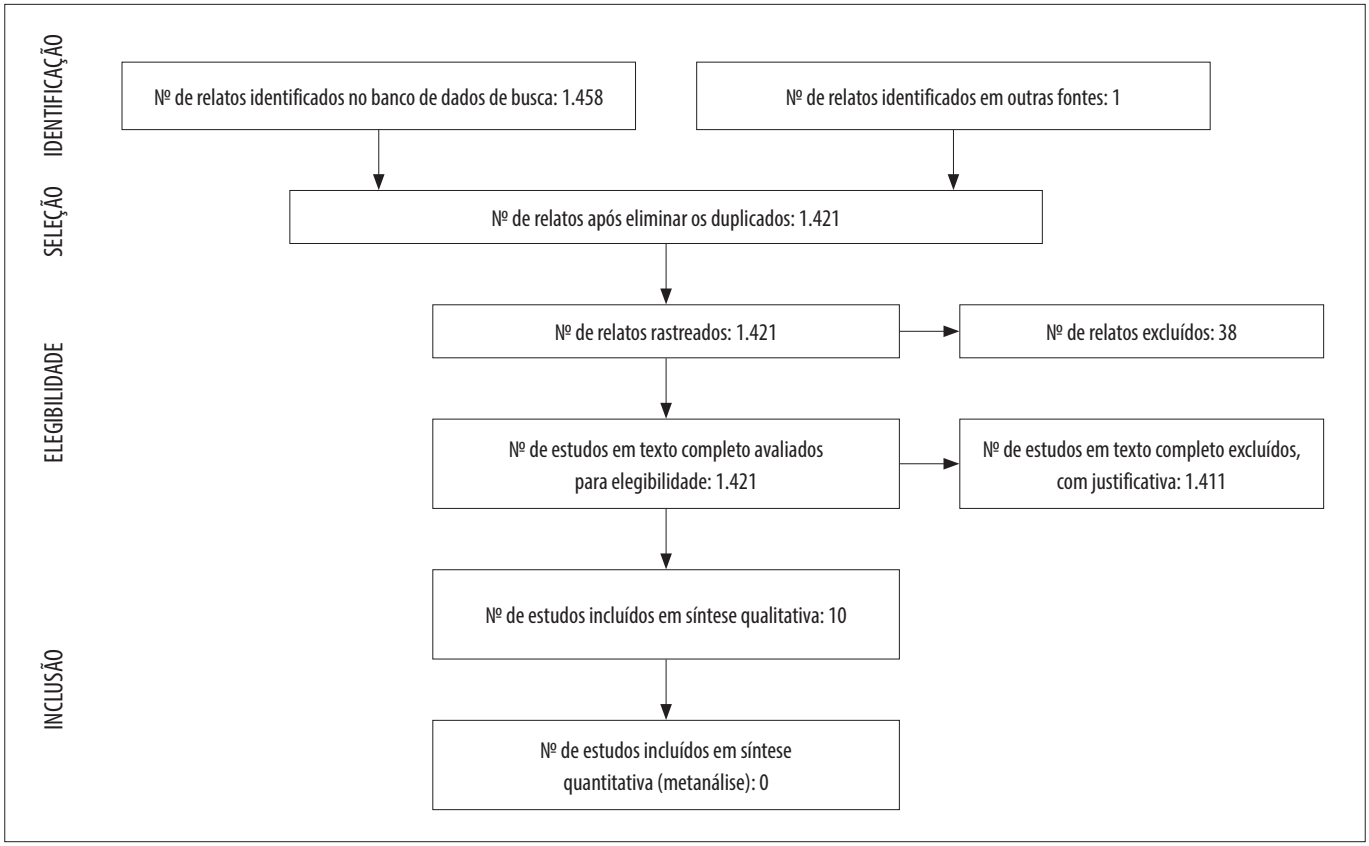


Figura 1

Fluxograma com os critérios de busca eletrônica em três bases de dados.

Quadro 1

Distribuição dos artigos com base no autor, ano de publicação, número de mulheres entrevistadas, faixa etária, variáveis analisadas e as principais características de cada estudo.

Autor/ano	Número de mulheres	Faixa etária	Variáveis	Características do estudo
MARTÍNEZ-MESA, 2013[7]	102.108	25-64 anos	Populações urbanas e rurais das regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul.	Condições socioeconômicas e demográficas levam à desigualdade no acesso ao exame de Papanicolaou.
BAIRROS et al, 2011[8]	2030	20-60 anos	Idade; estado civil; classe econômica; renda familiar; escolaridade; raça	Detecção precoce pode ser um reflexo das desigualdades raciais e socioeconômicas.
AMORIM; BARROS, 2014[9]	507	20-59 anos	Desigualdade social ao acesso; Filiação a plano de saúde	As taxas de mortalidade no Brasil são altas quando comparadas aos países desenvolvidos, que possuem programas de detecção precoce
ANDRADE et al., 2014[10]	230	40-59 anos	Desigualdade social ao acesso na unidade de saúde e setor privado	A oferta do Papanicolaou gratuitamente nas unidades de Saúde da Família ainda não foram suficientes para reduzir a mortalidade de CCU
ALBUQUERQUE et al., 2009[11]	258	25-59 anos	Grau de escolaridade; renda familiar; raça; estado civil	Os maiores percentuais da não realização do exame concentram-se em mulheres que nunca tiveram filhos
NAVARRO et al., 2015[12]	603	20-54 anos	Nível de conhecimento sobre o câncer de colo de útero; renda familiar per capita	Regiões com alta incidência de CCU geralmente apresentam programas de rastreamento que fornecem cobertura limitada
CORREA et al., 2012[13]	3939	25-27 anos	Paridade e região brasileira	Menor escolaridade e nível socioeconômico são fatores de risco para o CCU
BORGES et al., 2010[14]	164	12-17 anos	Nível de conhecimento	Dentre as participantes, 58,5% não sabiam da existência de um exame para prevenção de câncer de colo do útero
BARBOSA et al., 2017[15]	NI	25-64 anos	Cobertura do exame; Variáveis sociais e sociodemográficas entre as regiões	A cobertura do rastreio para o CCU no Brasil tem proporção abaixo da recomendada e apresenta disparidades regionais e sociodemográficas

Legenda: NI – Não informado.

moradoras dessas regiões apresentaram as menores proporções de realização do exame de PCCU. O que corrobora com o observado por Oliveira et al.,[18] que apresenta os maiores índices de cobertura do exame entre mulheres de 35 a 54 anos, com maior escolaridade, brancas, residentes na área urbana e moradoras das regiões Sul e Sudeste.

Um estudo realizado por Albuquerque et al.[11] evidenciou que as proporções da realização do exame foram baixas (menores que 40%), tanto em mulheres com menos de 25 anos quanto em mulheres de 60-69 anos de idade. Além da variável idade, as maiores influências de fatores associados à não realização do exame ginecológico junto ao Papanicolaou concentraram-se em mulheres que nunca tiveram filhos, com apenas 29%; e as diferenças no grau de escolaridade, com o percentual de 71% de realização do exame entre mulheres com o ensino fundamental completo, e apenas 60% entre mulheres com o ensino fundamental incompleto. Contudo, a realização do exame se mostrou mais elevada em mulheres de maior poder aquisitivo, brancas e que viviam com o companheiro. Sendo esta última variável um fator de risco associado à infecção pelo HPV, pois as mulheres que possuem múltiplos parceiros se expõem mais a esta infecção quando comparadas às que tiveram apenas um parceiro.

Em contrapartida, outros pesquisadores demonstraram que houve maior prevalência de adesão ao exame (90,0%) em mulheres na faixa etária de 20 a 34 anos e uma menor (76,0%), de 50 a 54 anos. Ressalte-se que a rotina periódica foi o principal motivo informado para a realização do rastreamento preventivo, o que se deve ao fato de que as mulheres realizam o exame de maneira oportunista (por gravidez, rotina médica ou queixa ginecológica). Geralmente, diante dessas situações as mulheres procuram assistência médica e então são orientadas a realizar o exame preventivo. Esse modelo está associado à percepção das mulheres de que o exame somente é necessário em condições de enfermidade ou sintomas, quando na verdade deve ser realizado nas mulheres assintomáticas, rotineiramente. Além disso, dentre os motivos relatados pelas mulheres que nunca haviam realizado o exame, a maioria não explicou o motivo da não realização, entretanto as que expuseram os motivos relataram vergonha ou medo, não achar necessário, dificuldade

em agendar uma consulta ou encontrar vaga, desinteresse e ausência de recomendação médica.[12]

Correa et al.[13] avaliaram em seu estudo a cobertura e a periodicidade do exame de Papanicolaou nas regiões Sul e Nordeste do Brasil. A população estudada foi composta por mulheres atendidas pelas Unidades Básicas de Saúde (UBS), residentes de 41 municípios com mais de 100 mil habitantes, e que tiveram filhos nos últimos dois anos anteriores à pesquisa. A amostra foi composta por mulheres da região Sul e do Nordeste, com idade média de 25 anos. Sobre o conhecimento do exame citopatológico, 91,1% do total das entrevistadas respondeu que conhecia o teste (Sul = 90,1%; Nordeste = 91,9%), porém, mesmo conhecendo, 17,3% das mulheres relataram que nunca o haviam realizado (Sul = 17,6%; Nordeste = 17%). Já a cobertura foi de 75,3%, não apresentando diferença significativa entre as regiões.

Um estudo realizado nas diferentes regiões brasileiras (Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul) observou que a prevalência da não realização do rastreamento foi de 12,9% no Brasil em geral, e a adesão ao exame preventivo foi maior em áreas urbanas do que nas áreas rurais. O que está intimamente ligado ao fato de existir, nas áreas urbanas, uma maior facilidade ao acesso dos serviços de saúde disponibilizados, o que facilita significativamente a realização do exame preventivo. Acrescentam ainda que a maior prevalência de câncer ocorreu entre mulheres entre 25 e 30 anos. Além disso, renda familiar, cor da pele, baixa escolaridade, paridade, não possuir plano de saúde e não consultar o médico nos últimos 12 meses foram fatores determinantes para a não realização do exame.[7]

Correa et al.[13] afirmam que mulheres com mais de um filho e que fizeram o teste no último ano apresentam uma probabilidade mais alta de ter periodicidade na realização do exame, observando-se que ter filhos é um fator essencial para que as mães se preocupem em realizar o exame citopatológico, em razão da necessidade de autocuidado após a gestação.

Já Bairros et al.[8] relataram uma maior prevalência de mulheres negras que nunca haviam se submetido ao exame de Papanicolaou, o que demonstra que a variável raça/cor pode ser considerada um marcador demográfico de desigualdade, em que mulheres negras se encontram em situação de maior vulnerabilidade econômica, social e de atenção à saúde. Quando analisadas as características socioeconômicas dessas mulheres negras, estas apresentaram como perfil que 45% pertencerem às classes D e E, 88,9% têm renda familiar *per capita* de até três salários-mínimos ou menos e a maioria possuía menos de oito anos de estudo.

Em relação à escolaridade, tais resultados assemelham-se ao verificado por Amorim e Barros,[9] onde fora evidenciado que mulheres com ensino superior e renda eram mais propensas a realizar o teste de citologia quando comparadas às mulheres com menor escolaridade e renda. Tais achados demonstram que o baixo nível educacional interfere no entendimento das mulheres sobre a relevância do exame, tornando-se uma barreira que dificulta a procura e adesão ao exame preventivo.

Andrade et al.[10] afirmaram que, na região Nordeste, os fatores que interferem na não realização do exame foram maiores em mulheres mais velhas (40-59 anos), de cor preta/parda, sem parceiro, com renda familiar menor ou igual a um salário-mínimo. A não adesão foi 2,5 vezes maior entre as mulheres que tinham conhecimento inadequado sobre o exame. Soma-se a isto, que os principais motivos para a não realização do exame preventivo nos últimos três anos ou para nunca o ter realizado foram a vergonha (23,5%) e ausência de problemas ginecológicos (47,0%), sendo este último ligado ao fato de que muitas mulheres ainda possuem a crença de estar saudável, por não apresentarem nenhuma sintomatologia, e por este motivo não achar necessário a realização do exame.

Borges et al.[14] avaliaram o conhecimento de adolescentes sobre o diagnóstico das principais doenças sexualmente transmissíveis (DST) e do câncer de colo de útero (CCU), em que mostraram que grande parte (58%) das alunas entrevistadas não sabiam da existência de um exame para a prevenção de câncer de colo de útero. Antes de um questionário e palestra educativa, 64,6% das adolescentes entrevistadas conheciam o exame de Papanicolaou e julgavam importante realizá-lo, porém desconheciam sua real função.

Dessa forma, a falta de conhecimento ou conhecimento incompleto em relação à finalidade do exame de Papanicolaou podem acabar limitando o acesso dessas mulheres ao exame devido à falta de compreensão sobre a doença, suas consequências, bem como a forma de prevenção e tratamento. O que demonstra a necessidade de aumentar a cobertura do exame, mas também o investimento em políticas públicas voltadas a esclarecer a população quanto à importância da prevenção do câncer de colo do útero e na realização do exame de Papanicolau, uma vez que muitas mulheres não parecem ter adquirido a cultura e/ou acesso de cuidados preventivos e de promoção de sua saúde.[19,20]

Amorim e Barros[9] relataram que o principal motivo alegado para a realização do exame foi fazê-lo como procedimento de rotina (92,8%). Já para as mulheres que nunca

fizeram o exame, ou que o tinham feito há mais de três anos, o pretexto utilizado foi o de achar que não era necessário realizá-lo, somente uma minoria das mulheres não sabiam o resultado do último exame. Em 3,1% dos exames os resultados apontavam alguma alteração, não sendo observada diferença estatisticamente significante na realização do exame entre as mulheres que têm e que não têm plano privado de saúde, sendo o setor público responsável por 55,7% e os planos privados de saúde por 44,3%, sendo que 8,2% das mulheres que referiram ter plano de saúde tiveram o exame realizado pelo SUS. Isso contradiz o observado por Andrade et al.,[10] onde houve maior prevalência de adesão ao exame citopatológico entre as mulheres que não utilizavam o serviço de saúde do bairro.

Ainda conforme Andrade et al.,[10] fatores como descrença na qualidade do exame realizado na unidade do bairro e demora para agendamento, entre outros aspectos, também podem ter relação com a baixa realização do exame na unidade de saúde local e, consequentemente, a sua própria realização, uma vez que boa parte da população brasileira é dependente exclusivamente aos serviços de saúde oferecidos pelo SUS.

Por fim, observou-se que nos diferentes estudos selecionados para a revisão, fatores predisponentes semelhantes como raça, escolaridade, poder aquisitivo, estado civil, paridade, possuir plano de saúde e conhecimento inadequado estão fortemente associados à não adesão ao exame nas diferentes regiões brasileiras.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, considerando a convergência nos resultados das diferentes regiões do país, pode-se concluir que o Brasil possui uma grande deficiência quanto à igualdade de acesso ao exame de Papanicolaou, bem como às informações sobre a sua importância e relevância, onde pode ser observado que a falta de conhecimento ou o conhecimento inadequado sobre a exame preventivo se tornou uma barreira que dificulta o acesso das mulheres ao exame. As diferenças entre raça, classe econômica, nível de escolaridade e estado civil mostram-se fatores determinantes quando comparamos a diferença na procura e acesso ao exame de Papanicolaou entre as mulheres brasileiras. Necessária, portanto, a utilização de ações, campanhas e estratégias para a melhoria na adesão ao exame, enfatizando a importância da sua realização.

REFERÊNCIAS

1. Bustamante-Ramos GM, Martínez-Sánchez A, Tenahua-Quitl I, Jiménez C, López-Mendoza Y. Conocimiento y prácticas de prevención sobre el virus del papiloma humano (VPH) em universitarios de La Sierra Sur, Oaxaca. Anales de La Facultad de Medicina, 2015; 76(4): 369-376.
2. Silva MGP, Almeida RT, Bastos EA, Nobre FF. Determinantes da detecção de atipias celulares no programa de rastreamento do câncer do colo do útero no Rio de Janeiro, Brasil. Revista Panamericana de Salud Pública, 2013; 34(2): 107-113.
3. Oliveira NC, Moura ERF, Diógenes MAR. Desempenho de enfermeiras na coleta de material cérvico-uterino para exame de Papanicolaou. Acta Paulista de Enfermagem, 2010; 23(3): 385-391.
4. Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro, 1996-2018. Disponível em: https://www.inca.gov.br/. Acesso em: 16 nov. 2018.
5. Assunção JRG, Araújo DDO, Araújo DV, Andrade FB, Ludovico MRGL. Avaliação de indicadores para câncer de colo do útero no período de 2008 a 2012. Revista Ciência Plural. 2015;1(3):38-50.
6. Shamseer L, Moher D, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: elaboration and explanation. BMJ. 2015 2;350:g7647.
7. Martínez-Mesa J, Werutsky G, Campani RB, Wehrmeister FC, Barrios CH. Inequalities in Pap smear screening for cervical cancer in Brazil. Prev Med. 2013; 57(4):366-71.
8. Bairros FS. Meneghel SN, Dias-da-Costa JS, Bassani DG, Menezes AMB, Gigante DP et al. Racial inequalities in access to women's health care in southern Brazil. Cad. Saúde Pública. 2011; 27(12): 2364-2372.
9. Amorim VMSL, Barros MBdA. Equity of access to Pap smears: population-based study in Campinas, São Paulo, Brazil. Rev. Bras. Epidemiol. 2014; 17 (Suppl 2): 136-149.
10. Andrade MS, Almeida MMG, Araújo TM, Santos KOB. Fatores associados a não adesão ao Papanicolau entre mulheres atendidas pela Estratégia Saúde da Família em Feira de Santana, Bahia, 2010. Epidemiol. Serv. Saúde. 2014; 23(1), 111-120.
11. Albuquerque KM, Frias PG, Andrade CLT, Aquino EML, Menezes G, Szwarcwald CL. Cobertura do teste de Papanicolaou e fatores associados à não-realização: um olhar sobre o Programa de Prevenção do Câncer do Colo do Útero em Pernambuco, Brasil. Cad. Saúde Pública. 2009; 25 (Suppl 2): s301-s309.
12. Navarro C, Fonseca AJ, Sibajev A, Souza CI, Araújo DS, Teles DA, et al. Cervical cancer screening coverage in a high-incidence region. Revista de Saúde Pública, 2015: 49(17).
13. Correa MS, Silveira DS, Siqueira FV, Facchini LA, Piccini RX, Thumé E, et al. Cobertura e adequação do exame citopatológico de colo uterino em estados das regiões Sul e Nordeste do Brasil. Caderno de Saúde Pública, 2012; 28(12): 2257-2266.
14. Borges JBR, Belintani MVG, Miranda PF, Camargo ACM, Guarisi R, Maia EMC, et al. Impacto das palestras educativas no conhecimento das adolescentes em relação às doenças sexualmente transmissíveis e câncer do colo uterino em Jundiaí, SP. Einstein (São Paulo). 2010; 8(3): 285-290.
15. Barbosa IR. Regional and Socioeconomic Differences in the Coverage of the Papanicolau Test in Brazil: Data from the Brazilian Health Survey 2013. Rev Bras Ginecol Obstet. 2017 Sep;39(9):480-487.
16. Girianelli VR, Gamarra CJ, Azevedo e Silva G. Os grandes contrastes na mortalidade por câncer do colo uterino e de mama no Brasil. Revista Saúde Pública, 2014: 48(3): 459-467.
17. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios. Panorama da Saúde no Brasil: acesso e utilização dos serviços, condições de saúde e fatores de risco e proteção à saúde (PNAD, 2008). Rio de Janeiro: IBGE; 2010.

18. Oliveira MM, Andrade SSCA, Oliveira PPV, Silva GA, Silva MMA, Malta DC. Cobertura de exame Papanicolaou em mulheres de 25 a 64 anos, segundo a Pesquisa Nacional de Saúde e o Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico, 2013. Revista Brasileira de Epidemiologia. 2018; 21, e180014.
19. Gomes CHR, Silva JA da, Ribeiro JA, Penna RMM. Câncer cervivo-uterino: correlação entre diagnóstico e realização prévia de exame preventivo em serviço de referência no norte de Minas Gerais. Rev Bras Cancerol. 2012; 58(1):41-5.
20. Jorge RJB, Sampaio LRL, Diógenes MAR, Mendonça FA Cruz, Sampaio LL. Fatores associados à não realização periódica do exame Papanicolaou. Rev Rene. 2011; 12(3):606-12.

Alterações hematológicas na dengue grave – uma revisão sistemática

Hematological changes in serious dengue – a systematic review

Moyra Machado Portilho[1], *Nerêda Vitoria Santos Cazaes Lima*[2], *Paula Silva Menezes Caires*[2]

[1] Doutorado em Medicina Tropical/Laboratório de Patologia e Biologia Molecular (LPBM), Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz/FIOCRUZ-BA. Salvador, BA, Brasil.

[2] Especialista em Análises Clínicas e Gestão Laboratorial/ Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Salvador, BA, Brasil.

Resumo

A infecção causada pelo vírus da dengue gera quase 400 milhões de novos casos a cada ano especialmente nos países tropicais e subtropicais, sendo considerada um problema de saúde pública em todo o mundo. Trata-se de uma doença sistêmica e infectocontagiosa, que pode ser classificada como dengue com ou sem sinais de alarme, e dengue grave. As alterações hematológicas estão relacionadas com a gravidade da doença e direcionam condutas médicas. Neste estudo foram realizadas buscas nas plataformas CAPES, LILACS e PubMed no período de janeiro de 2014 a janeiro de 2021 com o objetivo de reunir e avaliar artigos publicados que traziam informações sobre as alterações hematológicas na infecção de dengue grave. Após revisão minuciosa, foram incluídos no estudo um total de 15 artigos e os principais dados observados foram: diminuição da contagem de plaquetas (66,7%), aumento do hematócrito (26,6%), aumento do tempo de tromboplastina parcial ativada (26,6%) e leucopenia (26,6%).

Palavras-chave: Dengue Grave; Trombocitopenia; Leucopenia; Hemorragia

Abstract

The infection caused by the dengue virus generates almost 400 million new cases each year, especially in tropical and subtropical countries, being considered a public health problem worldwide. It is a systemic and infectious disease, which can be classified as dengue with or without alarm signs, and severe dengue. Hematological changes are related to the severity of the disease and may guide medical procedures. In this study, researches were carried out on the CAPES, LILACS and PubMed platforms with the aim of gathering and evaluating published articles that brought information about hematological changes in severe dengue infection from January 2014 to January 2021. After thorough review, a total of 15 articles were included in the study and the main data observed were: decreased platelet count (66.7%), increased hematocrit (26.6%), increased activated partial thromboplastin time (26.6%) and leukopenia (26.6%).

Keywords: Severe Dengue; Thrombocytopenia; Leukopenia; Hemorrhage

Correspondência
Paula Silva Menezes Caires
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
Av. Dom João VI, 275 - Brotas
Salvador - BA, CEP: 40290-000
E-mail: paulinha_menezes05@hotmail.com

Recebido em 24/02/2021 | Aprovado em 27/09/2021 | DOI: 10.21877/2448-3877.202102116

INTRODUÇÃO

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), a dengue causa impactos em pelo menos 128 países, com quase 400 milhões de novos casos registrados a cada ano, sendo considerada um problema de saúde pública em todo o mundo, especialmente nos países tropicais. No Brasil, o crescimento global da população, a urbanização e as condições socioambientais contribuíram para a proliferação do vetor e uma consequente disseminação desordenada da doença.[1-3]

A dengue é uma doença sistêmica, infectocontagiosa, classificada como arbovirose e tem como principal vetor o mosquito Aedes Aegypti. Atualmente existem quatro sorotipos virais: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. Com base nos sinais e sintomas apresentados pelo paciente, a dengue pode ser classificada de três formas: dengue, dengue com sinais de alarme e dengue grave. Dentre as manifestações clínicas, podemos citar como principais a febre aguda, cefaleia frontal, dor retro-ocular, dor muscular e dor nas articulações.[4-6]

Alterações hemorrágicas como hemoconcentração, leucopenia e plaquetopenia direcionam intervenções terapêuticas e estão relacionadas com a gravidade da doença, fazendo com que parâmetros hematológicos atuem de forma importante no diagnóstico, na evolução e no tratamento da dengue.[7]

A gravidade da doença, seu forte caráter reemergente e a ausência de um tratamento específico apontam a necessidade de estudos voltados para a compreensão do seu comportamento clínico, visto que a fisiopatologia da doença ainda não está completamente esclarecida e a evolução dos estudos são fundamentais para estabelecer uma base consistente para que sejam criadas medidas eficazes na progressão da cura.[8,9].

O objetivo do presente estudo consiste em reunir, sintetizar e avaliar os resultados de estudos primários, buscando enfatizar características hematológicas nos casos de dengue grave para a construção de um artigo de revisão literária.

METODOLOGIA

Estratégia de busca

Usando os guias PRISMA,[10] foram utilizadas as bases de dados LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), PubMed e Periódicos CAPES para identificar artigos relacionados a essa revisão publicados no período de janeiro de 2014 a de janeiro de 2021. A metodologia empregada foi a revisão sistemática em estudos primários, utilizando métodos previamente estabelecidos para identificar e avaliar criticamente pesquisas consideradas relevantes.

Como critério de inclusão, foram avaliados estudos publicados no período de 01 janeiro de 2014 a 01 janeiro de 2021, através da opção de busca avançada das plataformas utilizadas. Para que fossem incluídos, os trabalhos deveriam abordar sobre a dengue em sua forma grave e conter dados sobre alterações hematológicas. Os descritores utilizados foram "Severe dengue" e "hematological", sendo o primeiro procurado no título dos estudos e o segundo descrito na opção Outros; a busca foi processada da mesma forma em todas as plataformas. A pesquisa foi realizada em língua inglesa e o período da busca foi entre 01 de novembro de 2020 e 01 de janeiro de 2021.

Foram excluídos trabalhos de revisões literárias, manuscritos com texto completo indisponível e artigos que não traziam informações relacionadas a alterações hematológicas. A busca foi feita por dois revisores, os quais examinaram a elegibilidade de cada manuscrito independentemente.

Obtenção dos dados

Os artigos elegíveis tiveram suas informações detalhadas no questionário PRISMA. No total, foram encontrados 39 artigos; e destes, 24 foram excluídos por não preencherem os critérios de elegibilidade. Foram adotados 15 artigos para a composição deste estudo de revisão (Figura 1).

Síntese dos dados e análises

Após a análise dos artigos, os dados foram organizados em tabela por ordem cronológica da data de publicação, contendo informações referentes aos dados dos artigos como população do estudo, autor, ano de publicação, descrição das alterações hematológicas. Posteriormente, os dados encontrados foram discutidos resumidamente.

RESULTADOS

Foram realizadas buscas na literatura de artigos relacionados ao tema nas plataformas CAPES, LILACS e PubMed publicados entre 01 janeiro de 2014 e 01 janeiro de 2021. Um total de 39 estudos foram identificados, no entanto 15 artigos com uma ampla gama de objetivos atenderam aos critérios de elegibilidade e foram incluídos na análise, os quais são estudos observacionais.

Após avaliação dos estudos, os principais dados foram incluídos na Tabela 1 e posteriormente foi criada uma segunda tabela com as alterações hematológicas encontradas e suas respectivas frequências (Tabela 2). Entre as alterações hematológicas encontradas em casos de dengue grave, as

principais evidenciadas foram: diminuição da contagem de plaquetas, variação dos índices de hematócrito, aumento do tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcial ativada e leucopenia.

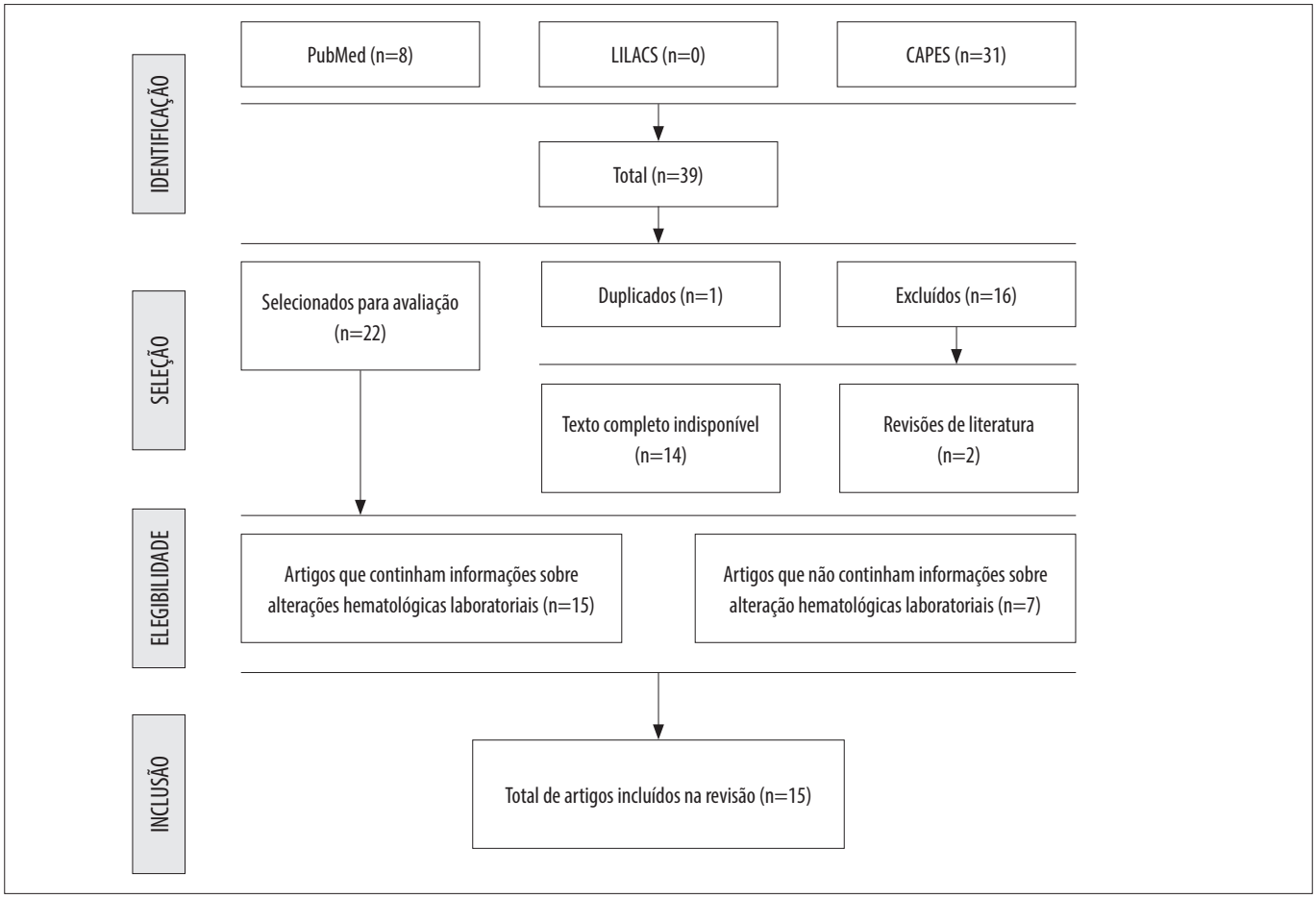


Figura 1

Diagrama do fluxo de seleção dos artigos elegíveis para o estudo segundo o modelo PRISMA 2009.

Tabela 1

Sumário dos estudos que preencheram todos os critérios de elegibilidade pré-definidos e principais alterações hematológicas descritas em casos de dengue grave.

População de estudo	Autores	País	Ano	Alterações encontradas
Crianças com dengue grave	Kamolwish Laoprasopwattana, Wanwipa Chaimongkol et al.	Tailândia	2014	Tempo de tromboplastina parcial aumentado, hematócrito baixo e tempo de protrombina aumentado.
Pacientes com diagnóstico confirmado de dengue	Ahmad, Mohd Hanief Ibrahim et al.	Malásia	2014	Trombocitopenia, aumento de hematócrito.
Indivíduos com idade entre 5 e 15 anos	Edelwisa Segubre-Mercado, Fe Esperanza Espino et al.	Filipinas	2015	Trombocitopenia e aumento do hematócrito.
Pacientes adultos com sintomas de dengue	Yung, Chee Fu Lee et al.	Singapura	2015	Trombocitopenia.
Pacientes com dengue grave na UTI.	Chin-Ming Chen, Khee-Siang Chan et al.	Taiwan	2016	Tempo de tromboplastina parcial aumentado, hematócrito baixo e tempo de protrombina aumentado.
Homem, cursou com anemia hemolítica após resolução da dengue grave	Mra Aye, Jason Cabot, Lee Wei Kiat William	Malásia	2016	Hematócrito baixo, leucopenia, monocitose, Coombs indireto positivo e tempo de tromboplastina parcial aumentado.

Tabela 1 (continuação)

Sumário dos estudos que preencheram todos os critérios de elegibilidade pré-definidos e principais alterações hematológicas descritas em casos de dengue grave.

População de estudo	Autores	País	Ano	Alterações encontradas
Gestante com dengue grave	Hori Hariyanto, Corry Quando Yahya et al.	Indonésia	2016	Trombocitopenia, tempo de tromboplastina parcial aumentado, dímero D ligeiramente elevado
Homem com dengue grave, infectado por dois sorotipos de dengue concomitantemente	Soroy Lardo, Yaldiera Utami et al.	Indonésia	2016	Trombocitopenia, leucopenia
Pacientes adultos com dengue grave e prolongada	Anil Kumar Hema S.	Índia	2016	Trombocitopenia
Crianças com sintomas de dengue	Minh Tuan Nguyen, Thi Nhan Ho et al.	Vietnã	2018	Trombocitopenia
Pacientes adultos com suspeita clínica de dengue	Ponsuge Chathurani Sigera, Ranmalee Amarasekara et al.	Sri Lanka	2019	Leucopenia
Pacientes pediátricos com dengue de 5 a 12 anos	Abhay PSRathore, Manouri Senanayake et al.	EUA	2020	Trombocitopenia e aumento do hematócrito
Pacientes adolescentes e adultos com diagnóstico sorológico confirmado de dengue	Tongluk Teerasarntipan, Roongruedee Chaiteerakij et al.	Tailândia	2020	Trombocitopenia, alto grau de hemoconcentração, leucopenia e linfocitose atípica.
Paciente hemofílico com dengue grave	Dilushi Wijayaratne, Priyanga Ranasinghe et al.	Sri Lanka	2020	Manifestações hemorrágicas em hemofílicos com níveis de plaquetas elevados, comparados a pacientes não hemofílicos.
Pacientes internados com suspeita de dengue	Goutam Patra, Bibhuti Saha e Sumi Mukhopadhyay	Índia	2021	Trombocitopenia e aumento de hematócrito.

Tabela 2

Frequência das alterações hematológicas encontradas nos estudos avaliados.

Alterações Hematológicas	Frequência (%)
Trombocitopenia	66,7
Leucopenia	26,6
Hematócrito aumentado	26,6
Tempo de tromboplastina parcial aumentado	26,6
Hematócrito baixo	20,0
Tempo de protrombina aumentado	13,3
Alto grau de hemoconcentração	6,6
Linfocitose atípica	6,6
Monocitose	6,6
Coombs indireto positivo	6,6
Dímero D ligeiramente elevado	6,6
Contagem normal de plaquetas com manifestações hemorrágicas	6,6

DISCUSSÃO

No presente estudo, foram revisados artigos publicados com informações referentes a alterações hematológicas encontradas no perfil grave da infecção causada pelo vírus da dengue, com a finalidade de catalogá-las em um trabalho secundário. A infecção da dengue grave usualmente tem como base fisiopatológica uma reação imune atípica que envolve imunocomplexos, citocinas e leucócitos cursando com aumento da permeabilidade e manifestações hemorrágicas associadas à trombocitopenia. [11]

A trombocitopenia concomitante ao aumento do hematócrito foi a alteração hematológica mais relatada nos trabalhos analisados nessa revisão. Esses achados podem ser relacionados ao processo fisiopatogênico da dengue grave, em que ocorre aumento da permeabilidade capilar e extravasamento de líquido para o ambiente extravascular. [12]

De acordo com Organização Mundial de Saúde, a redução das plaquetas é um achado freqüente em todas as apresentações da dengue, já a queda acentuada dos trombócitos combinada com a elevação dos valores de hematócritos são características da forma grave da doença. Na variação de contagem total dos glóbulos brancos, tanto a leucopenia quanto a leucocitose foram pontuadas, esta última se apresentando de forma moderada no início da infecção, e acompanhada de linfocitose com células atípicas. Tais achados também foram observados em estudo sobre alterações do hemograma no diagnóstico da dengue realizado por Oliveira et al. A leucopenia, assim como a queda das plaquetas, são observadas nos casos brandos como também nos mais críticos, no entanto na plaquetopenia valores abaixo de 50.000 acompanhados

da prova do laço positiva já caracteriza indicador de infecção na sua forma grave. O aumento do hematócrito é observado basicamente na fase grave da doença como consequência do extravasamento de plasma. [13]

A diminuição das plaquetas na infecção da dengue pode estar associada à deficiência genética, ação de agentes infecciosos ou indução farmacológica; podendo ocasionar inibição da proliferação dos megacariócitos com consequente redução da produção ou destruição plaquetária. Dos artigos analisados, 66,7% mencionaram a redução da série plaquetária. Estudos associam esse achado com a supressão medular induzida pelo vírus da dengue, relacionando a plaquetopenia com reações cruzadas entre anticorpos, principalmente anti-NS1, e proteínas de superfície com a formação de imunocomplexos e ativação do sistema complemento ocasionando a destruição plaquetária.[14]

Juntamente às alterações leucocitárias anteriormente citadas, também foram relatados o aumento do tempo de protrombina e o prolongamento do tempo de tromboplastina parcial ativada no coagulograma. Os dados citados anteriormente apareceram em 40% dos artigos utilizados. Os resultados encontrados podem ser considerados esperados quando relacionados ao comportamento fisiopatológico da infeção. Essas alterações também foram observadas no estudo feito por Fantinatti, sobre alterações hematológicas e fisiológicas provocadas pela infecção do vírus da dengue. [15]

Outros achados foram observados de forma menos frequente, como: hemoconcentração devido ao extravasamento de líquidos, neutropenia, monocitose, Coombs indireto positivo, dímero D aumentado e contagem de plaquetas normais com manifestações hemorrágicas em pacientes hemofílicos. Esses registros, além de estarem associados à resposta imune do vírus, foram observados em populações com características específicas, como paciente hemofílico e indivíduo diagnosticado com doença autoimune e infecção pela dengue simultaneamente.

A infecção da dengue caracteriza-se por apresentar variabilidade na sua apresentação clínica. O sorotipo do vírus, o estado imunitário do paciente, a concomitância com outras doenças e uma infecção adquirida anteriormente são fatores de risco para casos graves. [16]

Os estudos trouxeram valiosas informações, em diferentes situações da dengue em sua forma grave. Aos analistas clínicos, a observação dessas alterações pode guiar suspeitas iniciais de infecção da dengue e evolução para forma grave aliadas aos achados clínicos indicativos.

Contudo, algumas limitações foram percebidas, como ausência de estudos contendo informações de distensões de lâminas sanguíneas. Também se observou um número limitado de estudos sobre a dengue grave de forma mais específica, uma vez que a maioria dos estudos encontrados nas buscas das bases literárias aborda sobre a dengue de forma mais generalista. A possível causa para o baixo número de estudos em sua forma mais ínsita, apesar dos grandes casos de infecções por dengue no mundo e no Brasil, deve-se ao fato de ser considerada uma das doenças tropicais negligenciadas em razão da gestão e do pouco investimento governamental, dificultando um manejo mais adequado e um diagnóstico mais acurado e precoce. [17]

Sendo assim, os casos descritos apresentam significativa relevância no estudo das alterações hematológicas na dengue grave, agregando informações de indivíduos com características distintas e sintetizando diferentes formas de apresentação do vírus em situações peculiares relacionadas a gestantes, hemofílicos, crianças, pacientes em unidade de terapia intensiva e pacientes infectados por dois sorotipos concomitantemente, algo que ocorre com mais frequência em regiões endêmicas. Considerando-se que no ano de 2020 o Brasil representou 65% dos casos de dengue nas Américas,[16] esse trabalho reúne dados que podem colaborar para melhor entendimento sobre o ritmo e manejo da doença em populações específicas.

Com a presente revisão literária, foi possível reunir dados apresentados em 15 publicações sobre as principais alterações hematológicas observadas em indivíduos que apresentam a forma grave da infecção causada pelo vírus da dengue. Sendo assim, podemos destacar a importância de se ter mais investimentos que possibilitem a implementação e/ou continuação de pesquisas existentes na área, de forma a facilitar o diagnóstico e manejo clínico do paciente com dengue grave.

REFERÊNCIAS

1. Castro Passos M de, Aparecida Araújo Figueiredo M. Mortalidade por dengue no Estado da Bahia. Rev Baiana Saúde Pública [Internet]. 1 de setembro de 2012 [citado 2 de fevereiro de 2021];35(3):687. Disponível em: http://www.rbsp.sesab.ba.gov.br/index.php/rbsp/article/view/325.
2. Da Costa AIP, Natal D. Geographical distribution of dengue and socioeconomic factors in an urban locality in Southeastern Brazil. RevSaude Publica [Internet]. 1998 [citado 2 de fevereiro de 2021];32(3):232-6. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101998000300005&lng=en&nrm=iso&tlng=pt.

3. Mendonça F de A, Souza AV e, Dutra D de A. Saúde pública, urbanização e dengue no Brasil. Soc Nat [Internet]. Dezembro de 2009 [citado 2 de fevereiro de 2021];21(3). Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S198245132009000300003&lng=en&nrm=iso&tlng=PT.
4. Masera DC, Schenkel GC, Letícia Da Silva L, Spanhol MR, Fracasso R, Bonotto RM, et al. Febre hemorrágica da dengue: Aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais de uma arbovirose - Dengue hemorrhagicfever: Clinical, epidemiologicalandlaboratoryaspectsofanarboviruses [Internet]. Vol. 3, Revista Conhecimento Online-Ano. 2011 set [citado 2 de fevereiro de 2021]. Disponível em: www.feevale.br/revistaconhecimentoonline.
5. Costa IMP, Calado DC. Incidência dos casos de dengue (2007-2013) e distribuição sazonal de culicídeos (2012-2013) em Barreiras, Bahia. Epidemiol e Serviços Saúde [Internet]. 1 de outubro de 2016 [citado 2 de fevereirode2021];25(4):73544. Disponível em: http://www.iec.pa.gov.br/template_doi_ess.php?doi=10.5123/S1679497420160004007 35&scielo=S2237962220160004007 35.
6. Dias LBDA, De Almeida SCL, De Haes TM, Mota LM, Roriz-Filho JS. Dengue: Transmissão, aspectos clínicos, diagnóstico e tratamento. In: Medicina [Internet]. Faculdade de Medicina de Ribeirao Preto - USP.; 2010 [citado 2 de fevereiro de 2021]. p. 143–52. Disponível em: http://www.fmrp.usp.br/revista
7. De Oliveira ÉCL, Pontes ERJC, Da Cunha RV, Fróes ÍB, Do Nascimento D. Alterações hematológicas em pacientes com dengue. RevSocBras Med Trop [Internet]. novembro de 2009 [citado 2 de fevereiro de 2021];42(6):682–5. Disponivel: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao.
8. Pedroso, Enio Roberto Pietra, and Manoel Otavio da Costa Rocha. "Infecções emergentes e reemergentes [Internet]." *Rev Med Minas Gerais*. 2009 citado 7 de julho de 2022]: 140-150. Disponível em: http://www.fmt.am.gov.br/layout2011/dam/h1n1/referencias/ Infeccoes_emergentes_e_reemergentes.pdf.
9. Epidemiological Update: Dengue andotherArboviruses - 10 June 2020 (em inglês e espanhol) - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde [Internet]. [citado 27 de fevereiro de 2021]. Disponível em: https://www.paho.org/pt/documents/epidemiological-update-dengue-and-other-arboviruses-10-june-2020.
10. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred Reporting Items forSystematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med [Internet]. 21 de julho de 2009 [citado 2 de fevereiro de 2021];6(7):e1000097. Disponível em: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pmed.1000097.
11. Corrêa Estuti A. Distúrbios hematológicos causados por dengue. [citado 24 de fevereiro de 2021]. Disponível em: Microsoft Word - Artigo_de_conclus_o_de_curso_de_P_s_Gradua__o___NAOUM - Di\205) (ciencianews.com.br).
12. Henrique Almeida-Lisboa Salvador C. Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina da Bahia. Avaliação do valor da hemoconcentração, como indicador de gravidade nos portadores da febre hemorrágica da dengue [Internet]. Faculdade de Medicina da Bahia; 2016 fev [citado 24 de fevereiro de 2021]. Disponível em: http://repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/21318.
13. Oliveira ACS de, Terra APS, Silva-Teixeira DN, Dulgheroff ACB, Ferreira DA, Abreu MTCL, et al. Alterações do hemograma no diagnóstico de dengue: um estudo de 1.269 casos na cidade de Uberaba, Minas Gerais. RevPatolTrop [Internet]. 2012 [citado 13 de fevereiro de 2021];401-8. Disponível em: http://www.revistas.ufg.br/index.php/iptsp/article/download /21706/12776.
14. ARCA: Caracterização da interação entre vírus da Dengue e plaquetas humanas: ativação plaquetária, função mitocondrial e secreção de citocinas [Internet]. [citado 30 de julho de 2021]. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/7052.
15. Fantinatti, Leandro Ricardo Vezolli. "Alterações Hematológicas e Fisiológicas provocadas pela infecção do vírus da Dengue." [Internet] Academia de Ciência e Tecnologia São José do Rio Preto. Disponível em: https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/outros_temas/laboratorio_nas_infeccoes/20-Alteracoeshematologicas-na-dengue.pdf.
16. Tauil PL. Urbanization and dengue ecology. CadSaúde Pública / Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, EscNac Saúde Pública [Internet]. 2001 [citado 24 de fevereiro de 2021];17 Suppl:99–102. Disponível em: www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102311X2001000700018&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.
17. Da P, Jair R, Ministro Da B, Luiz S, Mandetta, Gabbardo J, et al. Doenças tropicais negligenciadas. [Internet]. [citado 22 de fevereiro de 2021.

Suplementação de probióticos: ferramenta no controle de infecções respiratórias virais – uma revisão sistemática

Probiotics supplementation: a tool in the control of viral respiratory infection – a systematic review

Luiz Gustavo dos Santos[1], Laudiceia Ferreira Fróis[2], João Vitor da Cunha Agostini[1], Camila Maria de Melo[3]

[1] Mestrando/Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG, Brasil.

[2] Mestranda/Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG, Brasil.

[3] Doutora/Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG, Brasil.

Resumo

Infecções respiratórias virais estão entre as principais causas globais de adoecimento de acordo com o estado de saúde e o microbioma do indivíduo. O objetivo dessa revisão foi identificar possíveis efeitos associados à suplementação de probióticos em infecções respiratórias virais. Para tanto, realizou-se uma busca sistematizada nas bases de dados Google Acadêmico, Scopus e PubMed partindo da hipótese de que a intervenção clínica baseada na suplementação de probióticos reduz a gravidade dos sinais/ sintomas de infecções virais. Foram identificados 585 artigos dos quais foram selecionados 16 para compor a síntese descritiva deste artigo. O uso de probióticos como terapêutica na infecção respiratória tem capacidade de melhorar o quadro clínico do paciente por meio de: (i) modulação da resposta imune, (ii) melhora da resposta específica, (iii) produção de bacteriocinas, (iv) melhora na integridade de mucosas, (v) redução do número de cópias virais.

Palavras-chave: Bacteriocinas; Probióticos; Infecções; Antígenos Virais

Abstract

Viral respiratory infections are among the main global causes of illness according to the individual's health status and microbiome. The objective of this review was to identify possible effects associated with probiotic supplementation in viral respiratory infections. Therefore, a systematic search was carried out in the Google Academic, Scopus and PubMed databases, based on the hypothesis that clinical intervention based on supplementation of probiotics reduces the severity of signs/symptoms of viral infections. 585 articles were identified, of which 16 were selected to compose the descriptive synthesis of this article. The use of probiotics as therapeutics in respiratory infection is able to improve the patient's clinical condition through: (i) modulation of the immune response, (ii) improvement of the specific response, (iii) production of bacteriocins, (iv) improvement in mucosal integrity, (v) reduction in the number of viral copies.

Keywords: Bacteria; Probiotics; Infections; Antigens Viral

Correspondência
Luiz Gustavo dos Santos
Universidade Federal de Lavras
Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP: 37200-900
Lavras, Minas Gerais, Brasil
E-mail: luiz.santos6@estudante.ufla.br

Recebido em 05/10/2021 | Aprovado em 04/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202189

INTRODUÇÃO

Infecções respiratórias (IR), com potencial epidêmico e pandêmico, têm assolado a sociedade por toda a história da humanidade. Seu principal agente etiológico são os vírus das famílias *Orthomyxoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Picornaviridae*, *Coronaviridae*, *Adenoviridae* e *Herpesviridae*,[1] das quais alguns representantes são responsáveis, respectivamente, por: (i) gripe, (ii) infecções no trato respiratório superior e inferior; (iii) poliomielite, hepatite, infecções semelhantes à rinite; (iv) síndrome respiratória aguda (SARS); (v) infecções diversas acometendo desde o trato respiratório, olhos e trato gastrointestinal e (vi) manifestações clínicas de herpes.[2]

Epidemiologicamente, ao redor do mundo a carga de adoecimento por infecção pulmonar, considerando o ano de 2002, foi maior que 6% do total global de doenças.[3] Das cinco grandes condições respiratórias (doença pulmonar obstrutiva crônica, asma, infecções respiratórias agudas, tuberculose e câncer de pulmão), as tidas como infecções respiratórias agudas são responsáveis por 4 milhões de mortes ao ano.[4] Ao serem infectados, alguns grupos de indivíduos desenvolvem quadros clínicos mais severos do que aqueles habitualmente observados para gripes comuns.[2] No contexto de infecções virais, a severidade e a evolução clínica do paciente estão atreladas a fatores diversos como imunidade, idade, sexo, morbidades e variações genéticas.[5] Soma-se a esses fatores a imunomodulação da microbiota.[6] Dentre os mecanismos destacam-se, nesse contexto, o aumento da produção de butirato e modulação do perfil imune com redução de secreção de interleucinas 6 e 12, as quais possuem caráter inflamatório.[7]

Apesar de todo o volume de informações a respeito dos mecanismos de ação, benefícios à saúde e baixo risco de efeitos colaterais observados com a suplementação de probióticos, existem ainda diversas questões a serem solucionadas, das quais destacam-se as que tangem a padronização e até mesmo a criação de protocolos de intervenção eficazes e que podem ser incorporados nos protocolos de atendimento da atenção básica em saúde. Nesse sentido, o objetivo dessa revisão foi identificar e discutir possíveis efeitos associados à suplementação de probióticos em infecções respiratórias virais.

Por fim, tendo em vista os mecanismos de ação propostos para os probióticos e, portanto, seus potenciais terapêuticos na modulação inflamatória, redução de risco e sintomas em infecções, o presente estudo teve como objetivo realizar uma revisão sistemática sobre o uso da suplementação/ingestão de probióticos sobre a severidade dos sintomas durante infecções virais do trato respiratório. Para tanto, essa revisão objetivou responder à seguinte questão de pesquisa: "A suplementação de probióticos pode modular a severidade de infecções respiratórias virais?".

MÉTODOS

Essa revisão foi conduzida com base nas recomendações PRISMA para Revisões Sistemáticas e Metanálises.[8] A presente revisão bibliográfica foi construída com base na pergunta "A suplementação de cepas probióticas apresenta efeito sobre a severidade das infecções virais do trato respiratório?", a qual seguiu o modelo de estrutura PICO, como se segue: População = Pacientes portadores de doenças crônicas com quadros de infecção respiratória viral, Intervenção = suplementação com probióticos, Controle = placebo, Desfecho = redução da severidade dos quadros infecciosos.

O desenvolvimento do artigo foi realizado por meio das seguintes etapas:

1. Primeira etapa: (i) identificação da questão de pesquisa através do sistema PICO, (ii) definição dos termos descritores/operadores booleanos ("*Probiotics*" *AND* "*Respiratory tract infections*" *AND* "*Viral infection*"), (iii) elaboração dos critérios de inclusão e exclusão, (iv) busca das publicações nas bases de dados (PubMed, Google Acadêmico e Scopus)
2. Segunda etapa: Leitura dos títulos e resumos para exclusão dos artigos que não apresentavam relação com a questão de pesquisa, bem como aqueles duplicados. A segunda etapa foi desenvolvida pelo primeiro e segundo autor (LGS e LFF) e avaliada pelo terceiro autor (JVCA). As discordâncias neste passo foram resolvidas mediante consenso.
3. Terceira etapa: Aquisição dos arquivos selecionados na etapa anterior e leitura completa com aplicação dos critérios de inclusão e exclusão. A terceira etapa foi desenvolvida de forma independente pelos autores LGS e LFF. As discordâncias neste passo foram resolvidas mediante consenso.
4. Quarta etapa: Extração das informações pelo primeiro autor (LGS), checado pelo segundo autor (LFF) e organizado por meio do programa Excel®2014.

Os filtros aplicados nas próprias bases de dados foram: o período (2000 a 2021), o idioma, inglês e português. Foram considerados aptos a participar da síntese descritiva deste

artigo aqueles que se enquadravam nos seguintes critérios de inclusão: (i) Ensaios Clínicos Randomizados, estudos *in vitro* ou *in vivo* (modelo experimental humanos e outros mamíferos) e *in silico*, (ii) Infecções do trato respiratório, (iii) Infecções virais.

Estudos que não se enquadravam no escopo deste artigo, estudos de revisão, infecções em outras mucosas e/ou sistemas e aquelas com etiologia bacteriana foram excluídos. O período delimitado para pesquisa compreendeu os anos de 2000 a 2021, nos idiomas inglês e português; a consulta às bases de dados foi realizada em janeiro de 2021. Os estudos selecionados tiveram as seguintes características registradas: (i) Fator de impacto; (ii) revista; (iii) título; (iv) ano de publicação, (v) autor; (vi) objetivos principais; (vii) modelo experimental; (viii) número de participantes e seus respectivos sexos; (ix) cepa; (x) dose e (xi) principais efeitos.

RESULTADOS

Da busca inicial foram identificados 585 artigos nas bases de dados. Destes, 200 encontrados no Google Acadêmico, 340 no PubMed e 45 na Scopus. Após refinamento por títulos, resumo, duplicidades e critérios de inclusão e exclusão foram selecionados 14 estudos para compor a síntese descritiva deste estudo. Dos artigos selecionados para a presente revisão, três foram realizados no Japão, dois na China, seguido por Alemanha, Argentina, Austrália, Egito, EUA, Finlândia, França, Índia, Dinamarca, com apenas uma publicação cada.

O período de publicação observado foi entre 2000 e 2021, sendo que o primeiro foi publicado por De Vrese et al. (2006),[9] já o mais recente por Manna et al. (2020).[10] Dentre os trabalhos incluídos, 7 (50%) realizaram pesquisas em humanos, [9,11-16] sendo que a maioria dos voluntários é composta por adultos saudáveis entre 18 e 67 anos. Ainda se tratando de modelos humanos, faz-se necessário destacar que 1 foi desenvolvido em crianças, [15] 1 com idosos acima de 67 anos [9] e 1 com corredores de elite.[11] Os demais, 5 (35,7%) foram realizados em modelos animais[17-21] e 1 (7,14%) utilizando células – *in vitro*[22] e 1 (7,14%) em modelo computacional – *in silico*.[10]

Ao considerarmos a existência de uma composição microbiológica distinta nas regiões do corpo [23] e seus mecanismos de ação. Dentre os principais achados destaca-se, em primeiro lugar, aqueles extraídos de estudos *in vitro* [22] e *in silico*. [10] Foram observados, respectivamente, a redução do número de cópias virais, [17] bem como a identificação de metabólitos microbianos capazes de inibir o mecanismo de ancoragem viral,[24] mecanismo de virulência essencial ao invasor. Em segundo lugar, destacam-se os efeitos observados nos 7 estudos desenvolvidos em humanos, [9,11,12-16,19] nos quais identificou-se redução dos sintomas da doença,[9,11-13,16] aumento de células da série branca,[15,21] redução no número de cópias virais[11] e modulações nas concentrações de citocinas.[12,19] Em terceiro lugar, destacam-se os efeitos observados nos cinco estudos desenvolvidos em modelos animais.[17-21] Nos quais identificou-se efeitos na manutenção de peso,[18,19] redução no número de cópias virais,[18,20] menor alteração nas estruturas pulmonares[17,21] e modulações nas concentrações de citocinas.[17-21]

A priori, foram apresentados os principais mecanismos de ação associados aos modelos em estudo, ficando, portanto, evidente seu potencial na condição em estudo. Ademais, é importante trazer para discussão as principais cepas e suas respectivas ações. Nesse sentido, os achados evidenciaram que *Lactobacillus fermentum VRI-003,* [11] *Lactobacillus gasseri TMC0356,* [16] *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus OLL1073R-1,* [13] *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103), [14] *Lactobacillus paracasei* CNCM I-1518, [17] bem como *Bifidobacterium longum* SP 07/3 e *Bifidobacterium bifidum* MF 20/5[9] têm função direta na melhora do prognóstico quando suplementados. No que tange à resposta imune, grande parte das evidências sugerem que as cepas *Lactobacillus fermentum,*[11] *Lactobacillus gasseri TMC0356, Bifidobacterium longum* SP 07/3, *Bifidobacterium bifidum* MF 20/5[9], [ ] *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus OLL1073R-1,*[13], *Streptococcus thermophilus* FDVS STM 5[15], *Lactobacillus paracasei* CNCM[17], *Lactobacillus acidophilus* NCFM, *L. acidophilus* X37, *Escherichia coli Nissle* 1917 O6:K5:H1[20] estimulam tanto a resposta imune não específica quanto específica. Ademais, salienta-se nos trabalhos que os microrganismos como *Lactobacillus fermentum,* [11] *Lactobacillus gasseri TMCO 356* [16] *e Escherichia coli Nissle* 1917 O6:K5:H1[20] foram capazes de estimular o aumento de interleucinas anti-inflamatórias.

Quanto ao efeito benéfico do probiótico sobre a redução de citocinas inflamatórias, apesar de poucos estudos clínicos de curta duração terem sido realizados, todos mostraram que a ingestão das cepas *Clostridium butyricum, Bacillus subtilis, Enterococcus faecium,* [19] *Bifidobacterium longum* SP 07/3, *Bifidobacterium bifidum* MF 20/5, [9] *Lactobacillus paracasei* CNCM[17] *e Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826[19] exerceram influência na resposta inflamatória, reduzindo seus níveis. A afirmativa de que os efeitos benéficos dos probióticos são mediados por múltiplos mecanismos vêm sendo identificada em centenas de trabalhos, dentre esses a redução da titulação viral. As investigações salientam que as cepas

Lactobacillus gasseri TMCO 356, [16] *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103), [14] *Lactobacillus acidophilus* NCFM, *Lactobacillus acidophilus* X37, [20] *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826, [19] *Bifidobacterium animalis* ssp.[22] *e Bifidobacterium bifidum* MF 20/5[9] apresentam efeito positivo na redução de titulação viral. Além disso, *Bifidobacterium animalis* ssp., [22] *Lactococcus lactis* JCM5805[16] e *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826,[19] quando suplementados, foram associados como preditores positivos, devido a sua boa capacidade de aderência às células hospedeiras, corroborando com melhores prognósticos.

Outra ação atribuída aos probióticos é sua capacidade de recompor a microbiota intestinal através da adesão e colonização da mucosa intestinal. Tal ação impede a adesão e subsequente produção de toxinas ou invasão das células epiteliais (dependendo do mecanismo de patogenicidade) por bactérias patogênicas. Nesse sentido, os microrganismos *Bifidobacterium longum* SP 07/3, *Bifidobacterium bifidum* MF 20/5[9] e *Lactobacillus casei*[20] foram apresentados pelos estudos como os mais encontrados nas fezes em indivíduos suplementados. Desse modo, a aplicação desses microrganismos com função modulatória intestinal pode ser considerada. Para além do supramencionado, condições clínicas associadas a infecções respiratórias virais ou de antibioticoterapia tem associação direta a sintomas gastrointestinais e diarreia. Tal condição caracteriza-se pelo desbalanço microbiano do hospedeiro repercutindo em sintomas diversos. Assim sendo, a correção das propriedades de uma microbiota em desequilíbrio constitui-se a base da terapia por probióticos. Desse modo, a restauração do equilíbrio dessa microbiota com cepas *Clostridium butyricum, Bacillus subtilis e Enterococcus faecium* [17] foi apresentada nos estudos como benefícios terapêuticos. Por fim, é possível consultar a síntese dos principais resultados nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1

Principais resultados observados em modelos *in vitro* e *in silico* para redução da severidade de infecções virais respiratórias durante intervenções com cepas probióticas

Autor(es), ano	Objetivos	Espécie/ linhagem	Duração (dias)	Microrganismo	Dose	Infectante	Efeitos
Abdelhami D. et al., 2019	Investigar as características de quatro bactérias do filo *Lactobacilos* e duas *Bifidobacterium* quanto à sua citotoxicidade e capacidade antiviral	*In vitro* (BHK célula)	–	*Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus helvéticos, Lactobacillus plantarum* ssp. *plantarum, Lactobacillus rhamnosus, Bifidobacterium longum Reuter* 1963AL, *Bifidobacterium bifidum* (Tissier 1900)	10% à concentração de $1x10^5$ ufc	Vírus Newcastle e Vírus da doença infecciosa da bolsa	1) Redução na titulação de vírus quando em co-cultura com as cepas probióticas. 2) Os probióticos apresentaram aderência a célula em cultura.
Manna et al., 2020	Investigar a probabilidade de lipopeptideos oriundos de probióticos interferir ou vencer a competição pelo domínio de ligação ao receptor utilizado pela SARS-CoV-2 para atingir o receptor ECA2.	Modelo computacional (*in silico*)	–	Peptídeos derivados de probióticos: *Bacillus subtilis* e *Bacillus amyloliquefaciens*: subtilisina (PDB ID:1PXQ); *Lactococcus lactis*: lactococina Gb (PDBID:2JPM); *Lactobacillus curvattus* e *Lactobacillus sakei*: curvacina A (PDB ID:2A2B) e sacacina P (PDB ID:10G7);	–	Sars-Cov2	1) polipeptídeos com alta afinidade à proteína S. 2) polipeptídeos com alta afinidade pelo domínio de ligação do receptor S1 viral, bem como ECA2 inibindo a infecção da célula.

Tabela 2

Principais resultados observados em modelos humanos para redução da severidade de infecções virais respiratórias durante intervenções com cepas probióticas

Autor(es), ano	Objetivos	Espécie/ linhagem	Duração (dias)	Microrganismo	Dose	Infectante	Efeitos
Cox et al., 2010	Avaliar a habilidade do probiótico *Lactobacillus fermentum* VRI-003 na melhora da imunidade de mucosa de atletas de elite	Modelo humano (homens adultos atletas, n=20)	28	*Lactobacillus fermentum* VRI-003	1,2x10^{10} UFC/diariamente (dividido em duas cápsulas ao dia)	–	1) (↓) no número de dias e gravidade de afecções respiratórias. 2) (↑) da IgA e IgA1 salivar no grupo suplementado. 3) (↑) na concentração plasmática de IFN-γ durante o tratamento com probiótico. 4) manutenção das concentrações de Interleucina-12 (IL-12) durante tratamento com probiótico.
De Vrese et al., 2006	Investigar o efeito da suplementação a longo prazo de probióticos em infecções respiratórias virais	Modelo humano (Idosos, n=468)	90 e 180	*Lactobacillus gasseri* PA 16/8, *Bifidobacterium longum* SP 07/3, *Bifidobacterium bifidum* MF 20/5	5x10^{7}UFC/cápsula/dia	Rinovírus, RS vírus, Enterovírus	1) (↓) da duração dos episódios para Grupo Probiótico (GP). 2) (↑) da contagem de células T-CD8^{+}e regulatórias (T-reg). 3) (↑) da contagem de células bacterianas do gênero *Bifidobacterium* sp. e *Lactobacillus* sp.
HU et al., 2016	Avaliar a capacidade do tratamento com probiótico em restaurar a homeostase durante antibioticoterapia e reduzir/ melhorar o risco de infecção viral	Modelo humano (crianças, adultos e idosos n=15)	40	*Clostridium butyricum* e *Bacillus subtilis* + *Enterococcus faecium*	10^{7} UFC/comprimido e 10^{8} UFC/ comprimido	Influenza A(H7N9)	1) (↓) nos níveis de proteína C-reativa para o (GP). 2) (↓) na diversidade e uniformidade nos grupos infectados com H7N9. 3) (↑) na diversidade e uniformidade dos grupos tratados com probiótico sem a presença de antibióticos. 4) tendência a aumentar a diversidade e uniformidade em pacientes probióticos+antibiótico.
Makino et al., 2010	Investigar se o consumo de iogurte fermentado com *Lactobacillus delbrueckii* tem efeito sobre a resistência a gripes	Modelo humano (adultos, n=158)	60 e 90	*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* OLL1073R-1	2 a 3,5x10^{8} UFC	Gripe comum	1) Risco de infecção 2,3 vezes menor no GP. 2) (↑) significativo do fator de transformação de linfócito blastoide. 3) (↑) da atividade de células NK no grupo que apresentava baixa atividade. 4) Melhora no escore de qualidade de vida para o grupo controle.
Lehtoranta et al., 2014	Avaliar se probióticos podem diminuir a ocorrência nasofaringea de vírus respiratórios	Modelo humano (recrutas, finlandeses, n=192)	90 e 150	*Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) e *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* (DSM 15954)	5x10^{9} e 2x10^{9} UFC, respectivamente	–	1) (↓) vírus foram detectados no GP embora não haja diferenças estatísticas. 2) grupo de recrutas com suplementação demonstrou menos picornavírus após 3 meses de intervenção.
Pérez et al., 2010	Investigar se probióticos mantêm sua capacidade de imunoestimulação em crianças com alto índice de exposições naturais a microrganismos	Modelo humano (crianças, n=162)	120	**Grupo controle:** *Streptococcus thermophilus* cepa FDVS STM 5 **Grupo experimental:** *Streptococcus thermophilus* cepa FDVS STM 5 + *Lactobacillus casei* cepa CRL431+ *Lactobacillus acidophilus* cepa CRL730 + oligofrutose + inulina	*Streptococcus thermophillus* (1x10^{8} UFC/ml). *Lactobacilluscasei* cepa CRL431 (1x10^{6} UFC/ml). *Lactobacillus acidophilus strain* CRL730 (1x10^{6}UFC/ml). Oligofrutose (950mg/garrafa). Inulina (240mg/garrafa). Grupo controle: *Streptococcus thermophilus* (95x10^{8}UFC) Grupo experimental: *Streptococcus thermophilus* (95x10^{8} UFC) + *Lactobacillus acidophilus* cepa CRL730 (95x10^{8} UFC) + *Lactobacillus casei* (95x10^{6} UFC)	–	1) valores de IgM tendencialmente mais elevados no grupo experimental. 2) ambos os grupos não apresentaram diferenças na concentração de anticorpos antitetânicos e antipneumocócicos (pré-vacina). 3) dia de febre e número de episódios de infecção não foi estatisticamente diferente entre os grupos. 4) *L. casei* estava presente em 83% das fezes do grupo experimental e 5% do grupo controle.

Tabela 2 (continuação)

Principais resultados observados em modelos humanos para redução da severidade de infecções virais respiratórias durante intervenções com cepas probióticas

Autor(es), ano	Objetivos	Espécie/ linhagem	Duração (dias)	Microrganismo	Dose	Infectante	Efeitos
Sugimura et al., 2015	Investigar os efeitos da ingestão oral de *Lactococcus lactis* JCM5805 na patogênese de doenças semelhantes à influenza e na resposta contra o vírus da gripe	Modelo humano (adultos, n=214)	70	**Grupo JMC5805:** iogurte fermentado por *Lactococcus lactis* JCM5805 **Grupo controle:** iogurte sem bactérias ácido-láticas	*Lactococcus lactis* JCM5805 100ml $1x10^{11}$ UFC	–	1) (↓) do número absoluto de diagnóstico de influenza ou resfriado comum no grupo JCM5805. 2) (↓) incidência de sintomas (febre e tosse) no grupo JCM5805. 3) os sintomas moderados a severo (dor de garganta, febre e tosse) (↓) para o grupo JCM5805. 4) pCD (CD86) (↑) após suplementação no grupo JCM5805 comparado ao placebo. 5) (↑) da transcrição de IFN-alfa no grupo JCM5805 comparado ao placebo. 6) (↑) transcrição de ISG15 após período de suplementação no grupo *Lactococcus lactis* JCM5805 comparado ao grupo placebo.

Tabela 3

Principais resultados observados em modelos animais para redução da severidade de infecções virais respiratórias durante intervenções com cepas probióticas

Autor(es), ano	Objetivos	Espécie/ linhagem	Duração	Microrganismo	Dose	Infectante	Efeitos
Belkacem et al., 2017	Investigar o mecanismo de proteção conferido pela cepa *L. paracasei* CNCM I-1518 em um modelo de infecção por influenza em rato	Modelo animal (camundongo BALB/c)	Dose única	*L. paracasei* CNCM I-1518	Gavagem oral de 200µL ($2x10^8$ UFC) e 1mg de peptideoglicano	Influenza A (A/ Escócia/20/74 - H3N2)	**Grupo tratado:** 1) menor carga viral após 3, 7 e 10 dias da infecção; 2) Menor lesão pulmonar em relação ao grupo controle (GC); 3) (↓) de citocinas inflamatórias (Mip-1α, Mip-1β, IFN-γ e MCP-1) em relação ao GC; 4) (↑) número total de células imunitárias no pulmão em D0; 5) (↑) do número de mieloides em todos os tecidos de células residentes ou circulatórias; 6) (↑) do número de células inatas no tecido pulmonar; 7) (↑) do número de células produtoras IFN-γ (principalmente NK) e Th2 na fase tardia da infecção.
Kawase et al., 2012	Investigar se a ingestão oral de *Lactobacillus gasseri* TMC0356 inativado pelo calor protege o hospedeiro contra infecção pelo vírus influenza e estimula sua imunidade	Modelo animal (camundongo BALB/c -Fêmeas)	19 dias	*Lactobacillus gasseri* TMC0356	**Grupo controle:** administrado 200µL solução salina fisiológica estéril; **Grupo 1:** *L. grassei* TMC0356-70 (inativado a 70ºC); **Grupo 2:** *L. grassei* TMC0356-90 (inativado a 90ºC).	Cepa de Flu A / PR / 8/34 adaptada a camundongo	1) (↑) do peso grupo TMC0356-70 comparado ao GC; 2) (↓) da titulação de vírus para as amostras isoladas do pulmão dos ratos TMC0356-70 e TMC0356-90 em relação ao GC; 3) Desaparecimento do epitélio brônquico para o grupo controle, enquanto TMC0356-70 e TMC0356-90 se apresentou próximos à normalidade; 4) Espaço alveolar para o GC foi menor quando comparado ao TMC0356-70 e TMC0356-90; 5) Maior atividade das NK para o grupo TMC0356-90 em relação ao GC; 6) IFN-c, IFN-ar1, perforina 1, CD247, Klrk1, MRNA de TNF, IL-12a, IL-12rb1 e IL-2rb foi maior para o grupo TMC0356-90 em relação ao GC; 7) mRNA expressão de IL-12a, IL-15 e IL-21 na placa de Peyer foi maior para o GC.

Tabela 3 (continuação)

Principais resultados observados em modelos animais para redução da severidade de infecções virais respiratórias durante intervenções com cepas probióticas

Autor(es), ano	Objetivos	Espécie/ linhagem	Duração	Microrganismo	Dose	Infectante	Efeitos
Percopo et al., 2019	Avaliar a capacidade de uma terapia imunomoduladora para o tratamento e profilaxia da infecção viral respiratória aguda.	Modelo animal (ratos selvagens C57BL/6 e geneticamente modificados - IL-6 $^{-/-}$, Nr4al$^{-/-}$, Ccr2$^{-/-}$)	Dose única	*Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826	50µL a uma concentração de 10^8 células	Vírus de pneumonia de rato (PMV) J3666	1) proteção substancial contra sequelas letais do PVM; 2) sobrevivência associada à redução IL-6 na circulação sistêmica. 3) (↓) da doença, livre da presença de neutrófilos e edema; 4) (↓) de neutrófilos das vias aéreas; 5) supressão da produção de IL-6 induzida pelo vírus, mecanismo de proteção mediado por *Lactobacillus* no trato respiratório; 6) perda de peso camundongos IL-6$^{-/-}$ limitada numa concentração menor de *L. plantarum* (10^7); 7) proteção sustentada contra sequelas inflamatórias letais.
Weiss et al., 2010	Investigar a indução de IL-12 por *Lactobacillus acidofilos* NCFM em células dendríticas de murinos	Modelo animal	Dose única	*Lactobacilos acidophilus* NCFM, *L. acidophilus* X37, *Bifidobacterium bifidum* Z9 e *Escherichia coli Nissle* 1917 06:K5:H1 (bactérias mortas utilizando UV)	Estimulação das células dendríticas: (10µg/mL) *L. acidófilos* NCFM, *L. acidófilos* X37 (+) *Escherichia coli Nissle* 1917; (40µg/ml) *B. bifidum* Z9	–	*L. acidófilos* NCFM: 1) (↑) em 5x a concentração de IFN-beta quando comparado ao controle positivo; 2) (↑) em mais de 7x a concentração de IL-12 quando comparado ao GC; 3) maior produção de TNF-alfa; 4) IL-10 exclusivamente produzida por células dendríticas estimuladas com *L. acidofillus* NCFM; 5) (↑) de CD80/CD86/ CD40 e MHC-II tanto para controle positivo como *L. acidofillus* NCFM; 6) forte estimulação de IFN-beta por *L. acidofillus* NCFM; 7) *L. acidofillus* NCFM foi capaz de (↑) a titulação de TLR-3 como observado no controle positivo; 8) (↑) expressão de genes de defesa viral. **Indução de mecanismos antivirais:** *L. acidophilus* NCFM induziu uma produção 14 vezes maior de IFN-beta comparado a *E. coli Nissle* 1917, ao passo que *B. bifidum* Z9 não produziu níveis detectáveis.
WU et al., 2013	Investigar a capacidade que a suplementação com probiótico desempenha na sinalização contra infecção por influenza A	Modelo animal (camundongo BALB/c – Fêmeas)	8 dias	Cepa comercial BIFICO	**Grupo normal:** administração intragástrica NaCl; **Grupo infectado:** vírus influenza; **Grupo antibiótico:** 30mg/mL, 0,2 mL/rato/ dia (10 camundongos) + vírus; **Grupo probiótico:** BIFICO 15,3mg/ mL + vírus (10 camundongos)	Influenza vírus (FM1)	1) Grupo neomicina adoeceu após 8 dias com (↓) apetite, preguiça, fadiga mental, falta de ar e fezes úmidas. Melhora de todos os sintomas 4 dias após administração de probiótico; 2) Grupo neomicina apresentou (↓) para os filos *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* com dominância a nível do cólon de Enterobactéria, *Enterococcus* e bactérias anaeróbicas; 3) Grupo neomicina (+) BIFICO demonstrou (↑) *Bifidobacterium e Lactobacillus* à níveis normais em comparação à neomicina; 4) Grupo BIFICO (↓) o índice pulmonar comparado a neomicina; 5) GP teve (↓) de inchaço do apêndice em relação ao grupo neomicina; 6) Grupo neomicina obteve ruptura na estrutura pulmonar, tecido conjuntivo com hiperplasia, elevada quantidade de linfócitos, congestão intravascular grave e infiltração na luz brônquica; 7) O GP apresentou (↓) extensão da doença; 8) restauração da expressão de mRNA para TLR7, MyD88, IRAK4, TRAF6 e NF-kB para GP; 9) GP (↓) o nível de IL-4 e IL-10 no homogeneizado pulmonar, estimulando o aumento de IFN-γ e IL-17.

DISCUSSÃO

A administração de probióticos é uma abordagem de baixo custo, segura e não invasiva. Probióticos têm amplo espectro de ação, atuando desde a modulação de biomarcadores inflamatórios,[17] passando pelo controle de sintomas clínicos,[18,20,25] magnitude das lesões,[16] peso[20,16] e, até mesmo, interagindo diretamente com outros microrganismos ou componentes do meio em que se inserem.[24] No que compete ao contexto imunológico, Berggren et al. (2011)[29] concluíram que a suplementação com gênero *Lactobacillus* sp. foi eficaz na redução da contagem de linfócitos B (LTB) desempenhando, portanto, inibição/redução de sua proliferação. Desta forma, apresenta ação eficiente na redução da inflamação e, portanto, diminuindo os sintomas comuns ao quadro observado em resfriados comuns.[29] Considerando ainda as modulações do perfil imune tanto no inato como no adquirido,[28] observa-se aumento nas concentrações de interferons,[12] aumento de células T citotóxicas ($CD8^+$),[21,25] modulação da atividade das células Natural Killers[22] como também no padrão de imunoglobulinas,[12,19] o que nos permite inferir sua capacidade imunomodulatória.

Além do exposto, probióticos também desempenham papel na modulação da expressão de mucinas[27] e de proteínas de ligação celular,[28] o que, por sua vez, confere proteção ao hospedeiro pela manutenção da camada de muco e da integridade epitelial. Com a camada de muco e a integridade epitelial em homeostase há maior proteção em função do estabelecimento de uma barreira física mais eficiente. Ambas são capazes de aprisionar/remover patógenos e alérgenos inalados,[27] bem como de inviabilizar a invasão de substâncias perigosas,[28] respectivamente. Ao passo que ocorre a aderência à superfície epitelial, tem-se o bloqueio à fixação viral por interferência estérica.

Além da competição física com as cópias virais, Al Kassaa et al., (2014)[30] destacam que produtos do metabolismo microbiano como as bacteriocinas desempenham efeitos antivirais. Manna et al., (2020)[10] corroboram tal declaração quando afirmam que compostos derivados de probióticos podem interagir com as proteínas do hospedeiro e virais inibindo sua ancoragem. Em se tratando da posologia, diferentes proporções de unidade formadoras de colônias (UFC) têm sido testadas no intuito de garantir que o mínimo viável chegue ao órgão alvo. Dentre aquelas abordadas nessa revisão é possível retomar o intervalo de concentração mínimo de 10^5 observado no estudo de Abdelhamid et al., (2019)[22] e máximo de 10^{10} UFC observado no trabalho de Sugimura et al., (2015).[16] Tal intervalo de concentração se encontra adequando ao mínimo terapêutico previsto pela recomendação da FAO de 10^6 UFC. Assim como as variadas formas de administração têm também uma grande diversidade de microrganismos. No entanto, embora as formas de administração e espécies sejam diversas, todos os estudos apontam efeitos positivos do uso dos mesmos sem apresentar efeitos colaterais. Embora os achados desta revisão sejam favoráveis, é válido destacar a necessidade de novos estudos clínicos em humanos, tendo em vista a heterogeneidade de metodologias. Além disso, a maioria dos estudos foi realizada em modelos animais e precisam ser replicados em humanos. Portanto, novos estudos clínicos devem ser conduzidos a fim de compilar os resultados e facilitar as buscas de evidências que orientem novas práticas para os profissionais que estão à frente do cuidado.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados identificados nos estudos compilados nessa revisão, podemos inferir que a suplementação de probióticos apresenta-se como estratégia de intervenção promissora e sem relato de efeitos colaterais. Mediante esta revisão, podemos afirmar que a utilização de cepas probióticas desempenha mecanismos de ação capazes de modular a interação entre agente etiológico e hospedeiro de forma a reduzir a virulência do infectante e, até mesmo, seus impactos clínicos associados. Dentre os diversos achados, os mais relevantes foram quanto à melhora na capacidade responsiva do sistema imune, homeostase da integridade epitelial e da camada de muco, redução do número de cópias virais, dentre outros. No entanto, vale destacar que os desfechos apontados nesta revisão se demonstram possíveis utilizando cepas e doses específicas. Contudo, são necessários mais estudos para esclarecer os mecanismos de ação, sinais clínicos passíveis de modulação, bem como possíveis doses, tempo de intervenção e cepas a serem utilizadas em condições clínicas que envolvam quadros infecciosos causados por agentes etiológicos virais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Processo nº 422665/2018-5) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Cientifico e Tecnológico (Processo nº 88887.48541/2020-00).

REFERÊNCIAS

1. ÇeliK İ, Saatçï E, Eyüboğlu FÖ. Emerging and reemerging respiratory viral infections up to Covid-19. 12 de abril de 2020;6.
2. Couch RB. Orthomyxoviruses. In: Baron S, organizador. Medical Microbiology [Internet]. 4th ed Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996 [citado 8 de junho de 2021]. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8611/
3. Mizgerd JP. Lung Infection – A Public Health Priority. PLoS Med. 17 de janeiro de 2006;3(2):e76.
4. Ferkol T, Schraufnagel D. The Global Burden of Respiratory Disease. Ann Am Thorac Soc. março de 2014;11(3):404-6.
5. Abdelrahman Z, Li M, Wang X. Comparative Review of SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, and Influenza A Respiratory Viruses. Front Immunol. 11 de setembro de 2020;11:552909.
6. Stavropoulou E, Bezirtzoglou E. Probiotics in Medicine: A Long Debate. Front Immunol. 25 de setembro de 2020;11:2192.
7. Borchers AT, Selmi C, Meyers FJ, Keen CL, Gershwin ME. Probiotics and immunity. J Gastroenterol. 2009;44(1):26-46.
8. Galvão TF, Pansani T de SA, Harrad D. Principais itens para relatar revisões sistemáticas e Meta-análises: A recomendação PRISMA. Epidemiol Serv Saúde. junho de 2015;24(2):335-42.
9. de Vrese M, Winkler P, Rautenberg P, Harder T, Noah C, Laue C, et al. Probiotic bacteria reduced duration and severity but not the incidence of common cold episodes in a double blind, randomized, controlled trial. Vaccine. novembro de 2006;24(44–46):6670–4.
10. Manna S, Chowdhury T, Chakraborty R, Mandal SM. Probiotics-Derived Peptides and Their Immunomodulatory Molecules Can Play a Preventive Role Against Viral Diseases Including COVID-19. Probiotics Antimicrob Proteins [Internet]. 23 de novembro de 2020 [citado 26 de janeiro de 2021]; Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/s12602-020-09727-7
11. Cox AJ, Pyne DB, Saunders PU, Fricker PA. Oral administration of the probiotic Lactobacillus fermentum VRI-003 and mucosal immunity in endurance athletes. Br J Sports Med. 1° de março de 2010;44(4):222–6.
12. Hu X, Zhang H, Lu H, Qian G, Lv L, Zhang C, et al. The Effect of Probiotic Treatment on Patients Infected with the H7N9 Influenza Virus. Wilson BA, organizador. PLOS ONE. 17 de março de 2016;11(3):1–14.
13. Makino S, Ikegami S, Kume A, Horiuchi H, Sasaki H, Orii N. Reducing the risk of infection in the elderly by dietary intake of yoghurt fermented with *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* OLL1073R-1. Br J Nutr. 14 de outubro de 2010;104(7):998–1006.
14. Lehtoranta L, Kalima K, He L, Lappalainen M, Roivainen M, Närkiö M, et al. Specific probiotics and virological findings in symptomatic conscripts attending military service in Finland. J Clin Virol. julho de 2014;60(3):276–81.
15. Pérez N, Iannicelli JC, Girard-Bosch C, González S, Varea A, Disalvo L, et al. Effect of probiotic supplementation on immunoglobulins, isoagglutinins and antibody response in children of low socio-economic status. Eur J Nutr. abril de 2010;49(3):173–9.
16. Sugimura T, Takahashi H, Jounai K, Ohshio K, Kanayama M, Tazumi K, et al. Effects of oral intake of plasmacytoid dendritic cells-stimulative lactic acid bacterial strain on pathogenesis of influenza-like illness and immunological response to influenza virus. Br J Nutr. setembro de 2015;114(5):727–33.
17. Belkacem N, Serafini N, Wheeler R, Derrien M, Boucinha L, Couesnon A, et al. Lactobacillus paracasei feeding improves immune control of influenza infection in mice. Sun J, organizador. PLOS ONE. 20 de setembro de 2017;12(9):1–20.
18. Kawase M, He F, Kubota A, Yoda K, Miyazawa K, Hiramatsu M. Heat-killed Lactobacillus gasseri TMC0356 protects mice against influenza virus infection by stimulating gut and respiratory immune responses. FEMS Immunol Med Microbiol. março de 2012;64(2):280–8.
19. Percopo CM, Ma M, Brenner TA, Krumholz JO, Break TJ, Laky K, et al. Critical Adverse Impact of IL-6 in Acute Pneumovirus Infection. J Immunol. 1° de fevereiro de 2019;202(3):871–82.
20. Weiss G, Rasmussen S, Zeuthen LH, Nielsen BN, Jarmer H, Jespersen L, et al. Lactobacillus acidophilus induces virus immune defence genes in murine dendritic cells by a Toll-like receptor-2-dependent mechanism: Induction of virus defence in dendritic cells by Lactobacillus acidophilus. Immunology. outubro de 2010;131(2):268–81.
21. Wu S, Jiang Z-Y, Sun Y-F, Yu B, Chen J, Dai C-Q, et al. Microbiota Regulates the TLR7 Signaling Pathway Against Respiratory Tract Influenza A Virus Infection. Curr Microbiol. outubro de 2013;67(4):414–22.
22. Abdelhamid AG, El-Masry SS, El-Dougdoug NK. Probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium strains possess safety characteristics, antiviral activities and host adherence factors revealed by genome mining. EPMA J. dezembro de 2019;10(4):337–50.
23. Nagalingam NA, Cope EK, Lynch SV. Probiotic strategies for treatment of respiratory diseases. Trends Microbiol. 2013 Sep;21(9):485-92. doi: 10.1016/j.tim.2013.04.008. Epub 2013 May 23. PMID: 23707554.
24. Franz CMAP, Huch M, Seifert S, Kramlich J, Bub A, Cho G-S, et al. Influence of a probiotic Lactobacillus casei strain on the colonisation with potential pathogenic streptococci and Staphylococcus aureus in the nasopharyngeal space of healthy men with a low baseline NK cell activity. Med Microbiol Immunol (Berl). agosto de 2015;204(4):527–38.
25. Liu J, Yang G, Huang H, Shi C, Gao X, Yang W, et al. Dendritic Cells Targeting *Lactobacillus plantarum* Strain NC8 with a Surface-Displayed Single-Chain Variable Fragment of CD11c Induce an Antigen-Specific Protective Cellular Immune Response. Bäumler AJ, organizador. Infect Immun. 18 de novembro de 2019;88(2):e00759-19, /iai/88/2/IAI.00759-19.atom.
26. Milajerdi A, Mousavi SM, Sadeghi A, Salari-Moghaddam A, Parohan M, Larijani B, et al. The effect of probiotics on inflammatory biomarkers: a meta-analysis of randomized clinical trials. Eur J Nutr. março de 2020;59(2):633–49.
27. Soccol CR, Medeiros ABP, Yamaguishi CT, Vandenberghe LP de S, Spier MR, Lindner JDD, et al. The Potential of Probiotics: A Review. 2010;48(4):413–33.
28. Nagalingam NA, Cope EK, Lynch SV. Probiotic strategies for treatment of respiratory diseases. Trends Microbiol. setembro de 2013;21(9):485–92.
29. Berggren A, Lazou Ahrén I, Larsson N, Önning G. Randomised, double-blind and placebo-controlled study using new probiotic lactobacilli for strengthening the body immune defence against viral infections. Eur J Nutr. abril de 2011;50(3):203–10.
30. Al Kassaa, I., Hober, D., Hamze, M., Chihib, N. E., & Drider, D. (2014). Antiviral Potential of Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 6(3-4), 177–185. doi:10.1007/s12602-014-9162-6

Avaliação da formação de biofilme bacteriano em diferentes ligas metálicas ortopédicas

Evaluation of the formation of bacterial biofilm in different orthopedic metallic alloys

Yasmin de Rezende Beiriz[1], Amanda Grippa Piffer[1], Rodrigo Moraes[2], Rodrigo Pratte Santos[3], Bil Randerson Bassetti[4], Igor de Barcellos Zanon[5], Igor Machado Cardoso[5], Charbel Jacob Junior[6], Igor Pecinalli[7]

[1] Acadêmica de Medicina. Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (EMESCAM). Vitória, ES, Brasil.

[2] Mestre em Microbiologia UFMG. Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (EMESCAM). Vitória, ES, Brasil.

[3] Doutor em Engenharia Ambiental. Faculdade PIO XII e Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, ES, Brasil.

[4] Infectologista. Hospital Santa Rita de Cássia, Vitória, ES, Brasil.

[5] Ortopedista. Hospital Santa Casa de Misericórdia de Vitória. Vitória, ES, Brasil.

[6] Doutor em Medicina/Saúde da Criança. Professor do departamento de Ortopedia da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (EMESCAM). Vitória, ES, Brasil.

[7] Acadêmico de Medicina. Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (EMESCAM). Vitória, ES, Brasil.

Resumo

Objetivo: Esse trabalho objetiva identificar e caracterizar o desenvolvimento da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* forte produtora de biofilme nos seguintes materiais ortopédicos: hastes de titânio e de cromo-cobalto. Método: A quantidade de biofilme formada nas amostras foi avaliada com base na quantidade de *Pseudomonas aeruginosa*, compondo o biofilme das amostras. Resultado: A formação de biofilme nas ligas de titânio foi significativamente maior do que o observado nas ligas cromo-cobalto, tanto no período de 17 horas quanto em uma semana. O cromo-cobalto possibilitou a formação de maior número de biofilme em uma semana, enquanto o titânio viabilizou maior geração de biofilme no período de 17 horas. Além disso, observou-se que um período de maior permanência do biomaterial em contato com a bactéria não pode ser considerado como um fator de proteção no processo de formação de biofilme. Desse modo, evidenciamos a necessidade de investimento em pesquisas relacionadas à prevalência e desenvolvimento de biofilme em ligas metálicas largamente utilizadas nos implantes cirúrgicos. Conclusão: O tempo influenciou apenas na formação de bactéria no cromo-cobalto, sendo quanto maior tempo de contato com a bactéria, maior quantidade de biofilme. Entre as ligas metálicas titânio e cromo-cobalto, o cromo-cobalto produziu menor quantidade de biofilme.

Palavras-chave: Coluna Vertebral. Biofilmes. Infecções

Abstract

Objective: This work aims to identify and characterize the development of the bacterium Pseudomonas aeruginosa forte that produces biofilm in the following orthopedic materials: titanium and chromium-cobalt rods. Method: The amount of biofilm formed in the samples was evaluated based on the amount of Pseudomonas aeruginosa composing the biofilm of the samples. Result: The biofilm formation in titanium alloys was significantly higher than that observed in chromium-cobalt alloys both in 17 hours and in a week. Chromium-cobalt enabled the formation of a greater number of biofilms in one week, while titanium enabled greater generation of biofilms in 17 hours. In addition, it was observed that a period of greater permanence of the biomaterial in contact with the bacteria cannot be considered as a protective factor in the biofilm formation process. Thus, we highlight the need for investment in research related to the prevalence and development of biofilm in metal alloys widely used in surgical implants. Conclusion: Time influenced only the formation of bacteria in chromium-cobalt, the longer the contact with the bacteria, the greater the amount of biofilm. Among the titanium and chromium-cobalt metal alloys, chromium-cobalt produced less biofilm.

Keywords: Spine. Biofilms. Infections

Correspondência
Yasmin de Rezende Beiriz
Rua Horácio Simões - 52 - Bairro Santos Dumont
Cidade Vila Velha - AC - CEP: 29109-280
E-mail: yasminbeiriz123@gmail.com

Recebido em 10/04/2021 | Aprovado em 10/02/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202135

INTRODUÇÃO

As doenças do sistema osteomuscular foram a causa de morbidade de mais de 200.000 pessoas em território brasileiro no ano de 2017, sendo que em muitas dessas doenças há demanda de cirurgia.[1,2] Os biomateriais ortopédicos utilizados no tratamento dessas patologias podem ser introduzidos no corpo humano substituindo ou reparando diferentes tecidos[1] e até orientando a reparação óssea, quando necessário.[2,3]

A infecção causada por bactérias é uma das principais limitações para a permanência dos biomateriais ortopédicos, como hastes no organismo.[4,5] Próteses utilizadas para correção em cirurgia de coluna vertebral estão relacionadas com uma taxa de infecção de 2% a 20%.[2] A adesão bacteriana aos biomateriais é um processo de alta complexidade que demanda preocupação, dada a sua influência sobre a morbidade e mortalidade dos pacientes.[6] A adesão a superfícies inertes pelas bactérias é um mecanismo de sobrevivência, contudo também é um importante fator de virulência.[7] O risco de infecção também pode variar de acordo com o tipo de prótese, devido a uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento de biofilme em cada um dos tipos.[2]

De maneira geral, os implantes ortopédicos de coluna vertebral são compostos de polímeros ou de ligas metálicas, sendo que neste último é necessária maior concentração bacteriana para o desenvolvimento de infecções.[8] Entre os metais, as ligas de titânio são menos propensas às infecções quando comparadas às de cromo-cobalto, por apresentar resistência à corrosão e ser mais inerte quando implantado em tecidos humanos.[9,10] Em estudos comparando a diferença de propensão à formação de biofilme em ligas de cromo-cobalto e titânio, notou-se que os primeiros apresentaram maior tendência a essa formação.[11] Dentre as inúmeras bactérias envolvidas nos estudos de biofilme, destacam-se *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.[12] Estudos realizados comparando a liga de titânio em relação ao cromo-cobalto mostraram que a liga de titânio apresenta menor nível de aderência bacteriana.[13] A espécie *P. aeruginosa* é um bacilo Gram-negativo aeróbico pertencente à família bacteriana *Pseudomonadaceae*, com metabolismo oxidativo e temperatura ótima de crescimento entre 37°C e 42°C. Suas infecções predominam em pacientes críticos e 13 imunocomprometidos.[6,14] Estudos em vários países mostram a presença de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes a antimicrobianos causando infecções hospitalares.[15-19] Desse modo, esse estudo objetiva identificar o desenvolvimento da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, forte produtora de biofilmes nos biomateriais titânio e cromo-cobalto.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no laboratório de Microbiologia da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (EMESCAM) e o biofilme formado no meio de cultura das amostras de hastes de titânio e de cromo-cobalto foi avaliado de acordo com a quantidade de *Pseudomonas aeruginosa* desenvolvida nas amostras. O estudo se iniciou com o repique da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, forte produtora de biofilme, centrifugação da cultura restante a 3500 rpm por 10 minutos e lavagem da biomassa com tampão de fosfato (PBS – bactérias solubilizadoras de fosfato) pH 7,2. A biomassa foi, então, suspensa em 3mL de PBS e a turvação da suspensão foi monitorada por densidade óptica (DO) em espectrofotômetro para avaliar a absorbância de cada uma das amostras. A amostra com maior absorbância (0,313), ou seja, com maior concentração de bactérias, foi utilizada para a pesquisa.[15] Fez-se, então, a preparação dos inóculos de bactéria, que foram transferidos individualmente para tubos Falcon de 15mL esterilizados, contendo 5mL de caldo Mueller-Hinton. Os corpos de prova de cada biomaterial foram esterilizados e introduzidos nestes tubos, permanecendo incubados a 37ºC, sob agitação, em estufa por 17 horas e por 168 horas (uma semana), a fim de viabilizar a formação de biofilme nos materiais.[15] Após estes períodos de incubação, as hastes foram retiradas dos tubos e lavadas separadamente com salina fisiológica estéril. Os biofilmes formados nesses materiais foram fixados com etanol, secos em ar ambiente e corados com cristal violeta por 5 minutos. O excesso de corante não ligado ao biofilme foi removido lavando-se as amostras com água destilada.[15]

Após essa etapa, os corpos de prova foram secos ao ar, colocados em contato com salina tamponada com fosfato pH 7,2, em seguida foram submetidos ao vórtex por 3 minutos. Após esse processo, foi feita sonicação por 5 minutos a 120 W para separar o biofilme formado do biomaterial.[11] Após a sonicação, as amostras foram novamente vorticadas por 3 minutos. As suspensões restantes tiveram seus valores de absorbância medidos a 570 nm por espectofotômetro Espectronic 20 – Baush Lomb para determinar a quantidade de biofilme formado em cada biomaterial.[15] Esse ensaio[15] foi realizado em triplicata, utilizando-se três amostras de cada

material para a avaliação por 17 horas e três amostras de cada material para a avaliação por 168 horas, isto é, uma semana.

Foi utilizada a estatística descritiva para apresentação dos resultados da avaliação da formação de biofilme bacteriano em diferentes ligas metálicas (titânio e cromocobalto). A normalidade dos dados obtidos foi testada a partir do teste Shapiro-Wilk, a fim de verificar como se apresentava tal distribuição. Para a comparação entre os grupos com distribuição normal foi utilizado o teste paramétrico ANOVA, seguido do teste de Tukey. Os dados com distribuição não normal foram comparados com a utilização do teste Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn. Para todas as análises foi considerado o nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa graphpadPrism 6.01.

RESULTADOS

Dentre os biomateriais testados no presente estudo, observou-se que a formação de biofilme nas ligas de titânio foi significativamente maior (p<0,05) do que o observado nas ligas de cromo-cobalto tanto em 17 horas quanto em 1 semana (Figura 1).

Além disso, foi observado que o crescimento bacteriano em cromo-cobalto obteve diferença significativa quando comparado os tempos 17 horas e 1 semana de incubação (p=0,0346). Para os resultados do crescimento bacteriano no biomaterial titânio, não foi observada diferença significativa (p=0,95) (Figura 2).

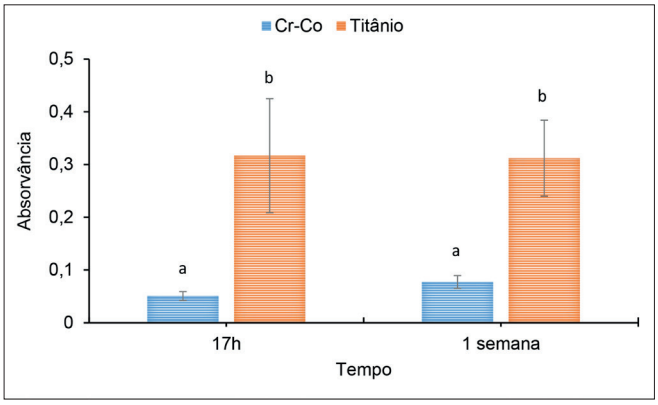


Figura 1

Comparação do crescimento bacteriano nos biomateriais cromo-cobalto e titânio em 17h e 1 semana. Letras diferentes no gráfico indicam diferença significativa pelo teste-T (p<0,05).

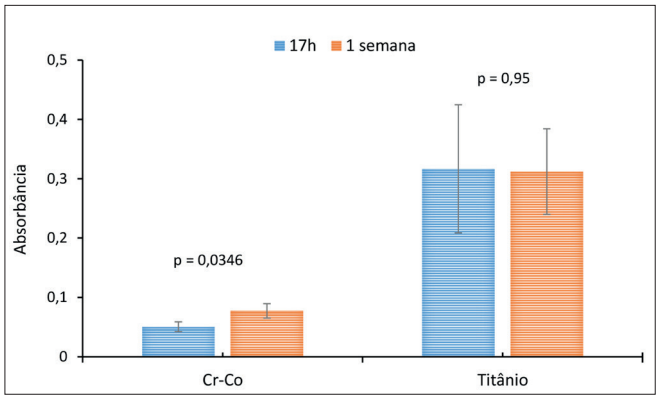


Figura 2

Comparação temporal (17h e 1 semana) do crescimento bacteriano nos biomateriais cromo-cobalto e titânio.

DISCUSSÃO

Dados na literatura não apontam um consenso sobre como as características físicas de um biomaterial influenciam a formação precoce do biofilme. É possível que características físico-químicas adicionais, como íons metálicos liberados e estrutura química, possam ter alguma influência que iniba ou retarde o desenvolvimento do biofilme.[15] Outros estudos advogam que a composição química e a superfície são características dos biomateriais que mais influenciam na sua capacidade de interagir com microrganismos,[15,20] de forma que a formação inicial de biofilme é um processo multifatorial que dificilmente pode ser explicado por uma única característica de superfície.[15] Poucos estudos comparam a formação de biofilme bacteriano entre titânio e cromo-cobalto e, quando comparados, apresentam resultados contraditórios. Há indícios de que as ligas de titânio são menos propensas às infecções quando comparadas às de aço e de cromo-cobalto,[21-24] o que ocorre devido a uma melhor biointegração do titânio, mais inerte quando implantada em tecidos humanos.[22] Os implantes de liga de titânio permitem que células hospedeiras se desenvolvam em um revestimento de tecido fibroso, dificultando a aderência bacteriana na superfície do implante.[25] Além disso, o titânio pode manter as bactérias dispersas na superfície do implante, tornando-as mais suscetíveis aos antibióticos.[26] As ligas de cromo-cobalto, por apresentarem reduzida integração com células do hospedeiro, dispõem de mais energia livre em sua superfície, o que permite mais colonização bacteriana.[7,22]

Estudos também concluíram que implantes de cromo--cobalto tiveram maior propensão para formação de biofilme em comparação com implantes de liga de titânio em 48 e 96 horas de incubação.[27] Contudo, observaram que após 6 horas a liga de cromo-cobalto-molibdênio (Cr-Co-Mo) formou menos biofilme que a liga de titânio, de modo que propriedades da superfície, como a hidrofobicidade ou a baixa energia livre superficial do Co-Cr-Mo, podem ter alguma influência na inibição ou no ato de retardar a expansão bidimensional do biofilme em superfícies com um grau semelhante de suavidade.[15] Um estudo comparando o titânio com outros materiais avaliou o titânio e o aço inoxidável, concluindo que o primeiro obteve uma taxa de infecção mais baixa que o aço inoxidável, corroborando o fato de que o material do implante impacta diretamente na taxa de infecção.[28]

Apesar do presente trabalho mostrar que o titânio forma mais biofilme que o cromo-cobalto, dados na literatura já indicam que o aço inoxidável permite mais formação de biofilme que o titânio.[28] Além disso, foi observado por meio do presente estudo que manter a bactéria em contato com o cromo-cobalto por uma semana favoreceu a formação de biofilme, sugerindo que quanto maior o tempo da prótese, maior é a chance de formação de biofilme. É importante salientar que estudos afirmam que as características inerentes do substrato, como rugosidade da superfície e a tendência hidrofóbica relativa da instrumentação, são pré-requisitos importantes para a formação de biofilmes.[29] Essas características também devem ser levadas em consideração por parte do ortopedista no momento da escolha do material.

CONCLUSÃO

Os resultados do desenvolvimento da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* demonstraram maior formação de biofilme no biomaterial titânio em comparação com os dados observados do crescimento bacteriano em cromo-cobalto. Também foi observado que o cromo-cobalto apresentou maior crescimento bacteriano quando avaliado após uma semana de incubação.

REFERÊNCIAS

1. DATASUS [internet]. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2018 [citado 2018 abr 10]. Disponível em: http://datasus.saude.gov.br/
2. Kasliwal MK, Tan LA, Traynelis VC. Infection with spinal instrumentation: Review of pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. Surgical Neurology International. 2014; 4(Suppl 5):392-403. doi:10.4103/2152-7806.120783.
3. Narayan R. The next generation of biomaterial development. Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences. 2010; 368(1917):1831-1837. doi:10.1098/rsta.2010.0001.
4. Almirante B, Miró J. Infecciones asociadas a las válvulas protésicas cardíacas, las prótesis vasculares y los dispositivos de electroestimulación cardíacos. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2008; 26(10):647-664. doi:10.1016/s0213-005x(08)75281-9.
5. Neut D, van Horn J, van Kooten T, van der Mei H, Busscher H. Detection of Biomaterial-Associated Infections in Orthopaedic Joint Implants. Clin Orthop Relat Res. 2003; 413:261-268. doi:10.1097/01.blo.0000073345.50837.84.
6. Ferreira JAB, Nobrega HN, Vieira VV, Abrantes SMP. Diversidade genética e produção de biofilme de amostras de Pseudomonas aeruginosa isoladas da água utilizada em unidades de Terapia Renal Substitutiva. RevAnalytica [Internet]. 2014; 65:56-69.
7. Henriques A, Vasconcelos C, Cerca N. A importância dos biofilmes nas infeções nosocomiais: O estado da arte. Arq Med [Internet]. 2013 Fev [citado 2019 Ago 30]; 27(1): 27-36.
8. Corder J, Munuera L, Folgueira M. Influence of bacterial strains on bone infection. Journal of Orthopaedic Research. 1996; 14(4):663-667.
9. Seaman S, Kerezoudis P, Bydon M, Torner J, Hitchon P. Titanium vs. polyetheretherketone (PEEK) interbody fusion: Meta-analysis and review of the literature. Journal of Clinical Neuroscience. 2017; 44:23-29.
10. Morlock M, Jäger M. Endoprothetik des älteren Menschen. Der Orthopäde. 2016; 46(1):4-17. 22.
11. Patel S, Aruni W, Inceoglu S, Akpolat Y, Botimer G, Cheng W et al. A comparison of Staphylococcus aureus biofilm formation on cobalt-chrome and titanium-alloy spinal implants. Journal of Clinical Neuroscience. 2016; 31:219- 223.
12. Freitas VR, van der Sand ST, Simonetti AB. In vitro biofilm formation by Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus on the surface of highspeed dental handpieces. Rev Odontol UNESP. 2010; 39(4): 193-200.
13. Veerachamy S, Yarlagadda T, Manivasagam G, Yarlagadda PK. Bacterial adherence and biofilm formation on medical implants: A review Proc Inst Mech Eng H. 2014; 228(10):1083-1099.
14. Lima JLC et al. Análise da produção de biofilme por isolados clínicos de Pseudomonas aeruginosa de pacientes com pneumonia associada à ventilação mecânica. Rev Bras Ter Intensiva. 2017; 3(29): 310-316. doi:/10.5935/0103-507x.20170039.
15. Koseki H, Yonekura A, Shida T, Yoda I, Horiuchi H, Morinaga Y et al. Early Staphylococcal Biofilm Formation on Solid Orthopaedic Implant Materials: In Vitro Study. PLoS ONE.2014;9(10):e107588.
16. Batista OMA, Monteiro RM, Machado MB, Ferreira AM, Valle ARMC, Watanabe E et al. Cateter urinário: o tempo de exposição e calibre podem influenciar na formação de biofilme. Acta Paul Enferm. 2018; 31(5): 535-541.
17. Ferreira PVA, Amêndola I, Oliveira LD, Silva CRG, Leão MVP, Santos SSF. Prevalence and Sensitivity of Bacilli and Pseudomonas in the Newborn's Oral Cavity Braz Dent. J. [Internet]. 2017 Aug [citado 2019 Ago 30]; 28(4): 423-427. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-64402017000400423&lng=en.
18. Monteiro RM, Marques DM, Domingues PCA, Oliveira VC, Macedo AP, Razaboni AM et al. Avaliação de um protocolo para redução da contaminação microbiana da água da unidade odontológica. Ato Odontol Latinoam [Internet]. 2018 Dec [citado 2019 Ago 30]; 31(3): 138-143. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-48342018000300003&lng=en.
19. Carvalho TP, Maske TT, Signori C, Brauner KV, Oliveira EFCMS. Desenvolvimento de lesões de cárie em dentina em um modelo de biofilme simplificado in vitro: um estudo piloto. Rev. Odontol. Unesp [internet]. 2018 jan 23 [citado 2019 ago 30]; 47(1): 40-44. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1807- 25772018000100040&lng=en.

20. Speranza G, Gottardi G, Pederzolli C, Lunelli L, Canteri R, Pasquardini I, et al. Rolo of chemical interactions in bacterial adhesion to polymer surfaces. Biomaterials. 2004; 25:2029-37.
21. Cordero J, Manuera L, Folgueira MD. Influence of bacterial strains on boné infection. J Orthop Res. 1996; 14:663-7.
22. Cordero J, Manuera L, Folgueira MD. The influence of the chemical composition and surface of the implant on infection. Injury. 1996; 27 (3):34-7.
23. Chang CC, Merritt K. Infection at the site of implanted materials with and without preadhered bacteria. J Orthop Res. 1994; 12:526-31.
24.Bos R, van der Mei HC, Gold J, Busscher HJ. Retention of bacteria on substratum surface with micro-patterned hydrophobicity. FEMS Microbial Lec. 2000; 189: 311-5.
25. Trampuz A, Widmer AF. Infection associated with orthopedic implants. Cur Opp Infect Dis. 2006; 19:349-56.
26. Lauderdale KJ, Malone CL, Boles BR, Morcuende J, Horswill AR. Dispersão de biofilme de Staphylococcus aureus resistente à meticilina associado à comunidade em material de implante ortopédico. J Orthop Res. 2010; 28(1): 55-61. doi:10.1002/jor.20943.
27. Shalin SP, Wilson A, Serkan I, Yusuf TA, Gary DB, Wayne KC, Olumide AD. A comparison of Staphylococcus aureus biofilm formationon cobalt-chrome and titanium-alloy spinal implants. Journal of Clinical Neuroscience. 2016; 31:219- 223.
28. Soultanis KC, Pyrovolou N, Zahos KA, Karaliotas GI, Lenti A, Liveris I, et al. Late postoperative infection following spinal instrumentation: Stainless steel versus titanium implants. J Surg Orthop Adv. 2008;17:193-9.
29. Kasliwal MK, Tan LA, Traynelis VC. Infection with spinal instrumentation: Review of pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. Surg Neurol Int. 2013; 4(5): 392-403.

Evaluation of the level of knowledge and prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in Santa Catarina, Brazil

Avaliação do nível de conhecimento e prevalência de infecção por Toxoplasma gondii entre gestantes de Santa Catarina, Brasil

Anelise Cristina Kohler[1], João Victor Serenini[2], Karina Duarte Alves[2], Andréa do Livramento[3], Tatiani Karini Rensi Botelho[3]

[1] Fundação Universidade Regional de Blumenau, Curso de Biomedicina, Blumenau, SC, Brasil.

[2] Fundação Universidade Regional de Blumenau, Curso de Farmácia, Blumenau, SC, Brasil.

[3] Fundação Universidade Regional de Blumenau, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Blumenau, SC, Brasil.

Abstract

Objective: This study aimed to determine the prevalence of Toxoplasma gondii (T. gondii) infection in pregnant women in Santa Catarina, as well as to analyze the knowledge about zoonosis in the study population. Methods: Therefore, 109 volunteers evaluated in Basic Health Units in the city of Blumenau and Brusque were evaluated. The data were collected through questionnaires and analysis of the pregnant woman's handbooks with medical records. Results: In this study, the prevalence of IgG anti-T. gondii was 53.7%, with positivity for IgM anti-T. gondii was 1.0%. Seronegativity for toxoplasmosis was verified in 45.3% of the participants. In addition, the data demonstrated that the majority of pregnant women have not any knowledge of the disease. Conclusion: The results of obtained demonstrated that health actions promotion is crucial to clarify about T. gondii infection, in order to prevent this disease during pregnancy.

Keywords: Toxoplasmosis; Toxoplasmosis, Congenital; Pregnancy Complications; Prenatal Care

Resumo

Objetivo: O presente trabalho teve por objetivo determinar a prevalência de infecção pelo *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) entre gestantes de Santa Catarina, bem como analisar o conhecimento sobre a zoonose na população em estudo. Métodos: Para tanto, foram avaliadas 109 voluntárias atendidas em Unidades Básicas de Saúde dos municípios de Blumenau e Brusque. Os dados foram coletados por meio de questionários e análise de cadernetas da gestante. Resultados: Neste estudo, a prevalência global de anti-*T. gondii* IgG foi de 53,7%, sendo que a positividade para anti-*T. gondii* IgM foi de 1,0%. A soronegatividade para toxoplasmose foi verificada em 45,3% das participantes. Além disso, os dados revelaram que a maioria das gestantes não tem conhecimento acerca da doença. Conclusão: Os resultados deste estudo demostraram a necessidade da promoção de ações de saúde voltadas ao esclarecimento sobre o *T. gondii* visando prevenir a infecção durante a gestação.

Palavras-chave: Toxoplasmose; Toxoplasmose Congênita; Complicações Infecciosas na Gravidez; Cuidado Pré-Natal

Correspondência
Andréa do Livramento
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Universidade Regional de Blumenau - FURB
Campus III - Rua São Paulo, Itoupava Seca
CEP 89030-000 - Blumenau - SC Brasil
E-mail: alivramento@furb.br

Recebido em: 06/06/2021 | Aprovado em 07/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202151

INTRODUCTION

Infections caused by parasites represent an important worldwide health problem. Among them, we highlight those originated by protozoa such as *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), which, due to their high incidence, require preventive public health actions.[1] This obligate intracellular parasite is the etiologic agent of toxoplasmosis, a zoonosis of high infectivity.[2]

The main pathway of transmission of *T. gondii* to humans is through the consumption of raw or undercooked meat, especially pork and goat meat, which is contaminated with tissue cysts. Another form of transmission occurs through the ingestion of oocysts that are eliminated in the feces of the definitive hosts, especially cats, and that is capable of contaminating water, soil and food. In addition, the parasite can also be transmitted to the fetus via the transplacental route.[3]

In immunocompetent individuals and pregnant women, toxoplasmosis is self-limiting and benign. Usually, it appears as asymptomatic or with mild symptoms such as fever, headaches, epigastric and muscle pain.[4,5,6] In fetuses and newborns, infection by *T. gondii* is severe, which can lead to serious complications.[7]

Congenital toxoplasmosis has high rates of infant morbidity and mortality in worldwide, with approximately 15% of intrauterine death from fetal infections. In addition, in 80% of cases of fetal affection, symptoms are late.[8]

In this context, prenatal care during pregnancy is extremely important for the early diagnosis and treatment of patients who come into contact with the protozoan, as well as, after birth, monitoring the newborn.[2] By the fact that, when the diagnosis occurs prematurely there are chances that, with correct treatment, prevent or decrease fetal infection, substantially reducing the sequelae.[9] In addition, it is important to emphasize the prevention actions of congenital toxoplasmosis, which can be accomplished via strategies related to the guidance for pregnant women on preventive behavior and the basics knowledge of transmission.[10]

Nevertheless, is necessary more seroprevalence data for *T. gondii* among pregnant women in Brazilian cities and states, in order to provide support for the implementation of public health actions pointing to clarify prevention strategies, risks, and way of transmission of toxoplasmosis in pregnancy.[2] Therefore, the present study aimed to determine the prevalence of *T. gondii* infection in pregnant women attended at Basic Health Units (UBS) in Santa Catarina, as well as to evaluate knowledge about toxoplasmosis among the population studied.

MATERIALS AND METHODS

This article is a cross-sectional prevalence study. In this study, was evaluated the total of 109 pregnant women attended at UBS in the Santa Catarina cities of Brusque (from March to April 2018) and Blumenau (from January to May 2019).

Blumenau is located in the northern region of Santa Catarina. Its urban area is divided into 35 neighborhoods, including 2 districts, and its estimated population is 361,855 inhabitants.[11] The city has 74 UBS, of which two, located in the downtown of the city, were included in the survey.

Brusque, in turn, has a population of 137,689 habitants.[12] The city is divided into 31 neighborhoods, in addition to the Chácara Edith Private Natural Heritage Reserve (RPPN).[13] Of the 31 neighborhoods in the city, 23 of them have UBS. Herein, 10 of these UBS were evaluated, which correspond to 11 neighborhoods.

Through the collection of data obtained through the pregnant woman's handbooks, the results of serological tests were analyzed for the detection of IgG and IgM anti-*T. gondii*. The pregnant women were considered seropositive, when the presence of IgG reagent accompanied or not by IgM reagent. Those patients who presented non-reactive results for IgG and IgM antibodies were classified as susceptible to infection.

In addition, a questionnaire was applied regarding the participants' sociodemographic and socioeconomic characteristics. The variables surveyed were: age group, education level and monthly family income, as well as obstetric aspects and knowledge of pregnant women about toxoplasmosis.

The inclusion criteria of the research were: presence of pregnancy confirmed clinically or through exams; prenatal care performed at the UBS and signing the Free and Informed Consent Form.

ETHICS

This study was approved by the Human Research Ethics Committee of the Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB), protocol number 2.440.560 and 3.033.737.

RESULTS

Among the pregnant women analyzed, 47.7% (n = 52) were attended at UBS in the city of Blumenau, and 52.3% (n = 57) in the city of Brusque.

The range of age participants was 18 to 40 years old, and in Blumenau and Brusque, the prevalent age group was 20-25 years. Furthermore, the socioeconomic profile was similar among participants from both cities, with a majority family income ranging from 2 to 3 monthly minimum wages. As for education, it was observed that the rate of volunteers with undergraduate education was higher in Blumenau (Table 1).

Regarding the gestational period of the participants, among those from Blumenau, 28.8% (n = 15) were in the third trimester of pregnancy, 51.9% (n = 27) in the second trimester, and 19.2 % (n = 10) in the first trimester. Considering the city of Brusque, 57.6% (n = 33) of the volunteers were in the third trimester of pregnancy, 28.1% (n = 16) in the second trimester, and 14.0% (n = 8) in the first trimester.

In Blumenau, it was not possible to access the results of serological tests for the detection of anti-toxoplasma antibodies of 14 pregnant women's handbook (26.9%). While in participants from Brusque, the results of these tests were analyzed in full. The serology data obtained from the pregnant woman's handbooks are described in Table 2.

The prevalence of IgG anti-*T. gondii* with or without IgM among pregnant women was 53.7% (n = 51). The results obtained by the pregnant women's handbook also revealed a seropositivity of 1.0% (n = 1) for IgG and IgM anti-*T. gondii*, concomitantly. However, 45.3% (n = 43) of the population analyzed was considered susceptible to infection by the protozoan, showing negativity for IgG and IgM antibodies (Table 2).

In the present study, a data survey of toxoplasmosis in pregnant women revealed that the majority of interviewees in the two cities does not have knowledge about the disease (Table 3).

Table 1

Sociodemographic and socioeconomic characteristics of pregnant women attended at UBS in Santa Catarina.

	Blumenau	Brusque	Total
Variable	**n (%)**	**n (%)**	**n (%)**
Age (years)			
15-19	4 (7,7%)	6 (10,5%)	10 (9,2%)
20-25	25 (48,1%)	22 (38,6%)	47 (43,1%)
26-30	12 (23,1%)	15 (26,3%)	27 (24,8%)
31-35	5 (9,6%)	10 (17,5%)	15 (13,8%)
36-40	6 (11,5%)	4 (7,0%)	10 (9,2%)
Total	52 (100%)	57 (100%)	109 (100%)
Education			
Illiterate	–	1 (1,8%)	1 (0,9%)
Incomplete Elementary School	2 (3,8%)	8 (14,0%)	10 (9,2%)
Complete Elementary School	2 (3,8%)	10 (17,5%)	12 (11,0%)
Incomplete High School	5 (9,6%)	10 (17,5%)	15 (13,8%)
Complete High School	19 (36,5%)	21 (36,8%)	40 (36,7%)
Undergraduate	24 (46,2%)	7 (12,3%)	31 (28,4%)
Total	52 (100%)	57 (100%)	109 (100%)
Monthly family income			
Up to 1 minimum wage	2 (3,8%)	17 (29,8%)	19 (17,4%)
2 to 3 minimum wages	33 (63,5%)	27 (47,4%)	60 (55,0%)
4 to 5 minimum wages	15 (28,8%)	10 (17,5%)	25 (22,9%)
Above 6 minimum wages	2 (3,8%)	2 (3,5%)	4 (3,7%)
Others	–	1 (1,8%)	1 (0,9%)
Total	52 (100%)	57 (100%)	109 (100%)

Table 2

Frequency of IgM and IgG anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women attended at UBS in Santa Catarina.

	Blumenau	Brusque	Total
Antibodies	**n (%)**	**n (%)**	**n (%)**
IgG (+) IgM (-)	20 (52,6%)	30 (52,6%)	50 (52,6%)
IgG (+) IgM (+)	–	1 (1,8%)	1 (1,0%)
IgG (-) IgM (+)	1 (2,6%)	–	1 (1,0%)
IgG (-) IgM (-)	17 (44,7%)	26 (45,6%)	43 (45,3%)
Total	38 (100%)	57 (100%)	95 (100%)

Table 3

Knowledge of pregnant women attended at UBS in Santa Catarina about toxoplasmosis.

	Blumenau	Brusque	Total
Level of knowledge	**n (%)**	**n (%)**	**n (%)**
Unknown	8 (15,4%)	13 (22,8%)	21 (19,3%)
You've heard, but don't know nothing about it	28 (53,8%)	28 (49,1%)	56 (51,4%)
Know something about	16 (30,8%)	16 (28,1%)	32 (29,4%)
Total	52 (100%)	57 (100%)	109 (100%)

DISCUSSION

The results of the serological tests presented here were similar to those of other studies carried out with pregnant women in the southern region of Brazil.[14,15] However, the frequency of IgG anti-*T. gondii* antibody is lower compared to studies carried out in other regions of the Brazil, as 77.9% in Maranhão;[2] 77.5% in Recife, Pernambuco[5] and in Cuiabá, where the marker of contact with the parasite was evidenced in 70.7% of pregnant women attended by the Unified Health System.[16]

The prevalence of positive IgG and IgM antibodies variable in worldwide, including within the country itself.[17] This variation may be related to diet behavior, hygiene, basic sanitation, geographic location, socioeconomic conditions and factors of each population.[15] The seroprevalence data found in Brazil are high when compared to other countries: 10.3% in Japan;[18] and 11.9% in England.[19] In Mexico, the prevalence among pregnant women is considered low, varying between 6.1% and 8.2%. [20]

In this survey, only one pregnant woman (1.0%) was positive for IgG and IgM anti-*T. gondii*, simultaneously. However, due to the unavailability of the avidity of the IgG antibody data, it was not possible to determine if was an acute infection, since the presence of IgM class antibodies can be detected up to 18 months after the primary infection, called as residual antibodies.[21]

It is also worth pointing out the susceptibility index, IgG and IgM non-reactive, of the pregnant women here studied, which makes women vulnerable to *T. gondii* and, consequently, at greater risk of acquiring the infection during pregnancy. Thus, it is importante to emphasize the importance of implementing actions to prevent and control the infection, thereby reducing the number of congenital infections.

The risks of vertical transmission and the severity of the sequelae are directly related to the gestational period at which the infection occurs.[22] The consequences of congenital toxoplasmosis for the fetus are several, as abortion, intrauterine growth restriction, prematurity, low weight and other damages to the newborn, such as: chorioretinitis, strabismus, jaundice, hepatomegaly, brain calcifications, hydrocephalus and developmental delay.[7,23]

Considering that maternal-fetal transmission can be avoided with early diagnosis and treatment, the rate of absence of information on serology for *T. gondii* reported here represents a negative indicator. In addition, the fact that the minority of participants was in the first trimester of pregnancy may be related to the delay in starting prenatal care. In this context, examinations are performed late, potentially resulting in a high incidence of congenital toxoplasmosis.

In Brazil, a serological test at the first prenatal visit is part of the routine of pregnant women care. However, the main problem is a non-repetition of serological tests during pregnancy. In addition, part of the pregnant women does not receive any prenatal care or receive care in advanced period of pregnancy. In this case, even if the tests detect specific maternal antibodies, it will not be possible to identify whether the infection was acquired before or during pregnancy.

According to the data here analyzed, it was observed that the majority of pregnant women in the two cities in Santa Catarina are not aware of toxoplasmosis. This is not consistent with the fact that most of the participants in Blumenau has undergraduate. The approach to information by pregnant women is a fundamental part of the disease prevention, especially among those who are classified as susceptible to infection. In this way, health professionals develop an essential role in the health information and education, as they are in direct contact with pregnant women and the community in general. Therefore, it is essential that they are updated and attentive to the demands of the community.[24]

CONCLUSION

In conclusion, the results of this study demonstrated the essential to promote public health policies to elucidate about *T. gondii* infection among pregnant women, as well as the prevention and control of toxoplasmosis in pregnancy. These actions are an important tool for reducing fetal infection and reducing the morbidity and mortality rates associated with congenital toxoplasmosis.

REFERENCES

1. Vasoo S, Pritt BS. Molecular diagnostics and parasitic disease. Clin Lab Med. 2013;33(3):461-503.
2. Câmara JT, Silva MG, Castro AM. Prevalência de toxoplasmose em gestantes atendidas em dois centros de referência em uma cidade do Nordeste, Brasil. Rev Bras Ginecol Obstet. 2015;37(2):64-70.
3. Lopez A, Dietz VJ, Wilson M, Navin TR, Jones JL. Preventing congenital toxoplasmosis. MMWR Recomm Rep. 2000;49(RR-2):57-75.
4. Andrade GMQ, Carvalho AL, Orefice F, Carvalho IR, Nogueira MGS. Toxoplasmose congênita: orientação prática sobre prevenção e tratamento. Rev Med Minas Gerais. 2004;14(1 Supl. 3):S85-S91.
5. Porto AMF, Amorim MMR, Coelho ICN, Santos LC. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes atendidas em maternidade. Rev Assoc Med Bras 2008;54(3):242-8.
6. Carvalho MAS, Sátiro FAZ, Oliveira RMP, Ventura CA. Soroprevalência de toxoplasmose humana na cidade de Teresina, no período de 2010 a 2014. Revista Saúde e Pesquisa. 2015;8(3):517-24.
7. Capobiango JD, Mitsuka-Breganó R, Navarro IT, Rezende Neto CP, Casella A, Lopes-Mori FM, et al. Congenital toxoplasmosis in a reference center of Paraná, Southern Brazil. Braz J Infect Dis. 2014;18(4):364-71.
8. Nascimento TL, Pacheco CM, Sousa FF. Prevalência de Toxoplasma gondii em gestantes atendidas pelo Sistema Único de Saúde. Ciência & Saúde. 2017;10(2):96-101.
9. Pessanha TM, Carvalho M, Pone MVS, Gomes Junior SC. Abordagem diagnóstica e terapêutica da toxoplasmose em gestantes e as repercussões no recém-nascido. Rev Paul Pediatr. 2011;29(3):341-7.
10. Serrano MGI, Taques MDB, Gomes M, Elias RM, Silva LM. Toxoplasmose na gravidez: revisão bibliográfica. Connection Line. 2016;14:36-46.
11. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Brasil (IBGE). Santa Catarina. Blumenau. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [Internet]. 2020 [cited 2021 May 25]. Available from: https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sc/blumenau/panorama.
12. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Brasil. Santa Catarina. Brusque. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [Internet]. 2020 [cited 2021 May 25]. Available from: https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sc/brusque/panorama.
13. Sistema Leis Municipais. Lei complementar nº 238, de 30 de setembro de 2015. Define, denomina e estabelece a divisão dos bairros do município de Brusque, e dá outras providências. Sistema Leis Municipais. Santa Catarina. Brusque [Internet]. 2015 [cited 2021 Jan 21]. Available from: https://leismunicipais.com.br/a/sc/b/brusque/lei-complementar/2015/24/238/lei-complementar-n-238-2015-define-denomina-e-estabelece-a-divisao-dos-bairros-do-municipio-de-brusque-e-da-outras-providencias?q=Bairros.
14. Ferezin RI, Bertolini DA, Demarchi IG. Prevalência de sorologia positiva para HIV, hepatite B, toxoplasmose e rubéola em gestantes do noroeste paranaense. Rev Bras Ginecol Obstet. 2013;35(2):66-70.
15. Martinelli MT, Zapelini RM, Iser BPM, Gonçalves HC, Goetten A. Toxoplasmose em parturientes de um Hospital do Sul de Santa Catarina, Brasil. Rev AMRIGS. 2017;61(1):25-9.
16. Leão PRD, Filho JM, Medeiros SF. Toxoplasmose: Soroprevalência em Puérperas atendidas pelo sistema único de saúde. Rev Bras Ginecol Obstet. 2004;26(8):627-32.
17. Montoya JG, Rosso F. Diagnosis and management of toxoplasmosis. Clin Perinatol. 2005;32(3):705-26.
18. Sakikawa M, Noda S, Hanaoka M, Nakayama H, Hojo S, Kakinoki S, et al. Anti-Toxoplasma antibody prevalence, primary infection rate and risk factors in a study of toxoplasmosis in 4,466 pregnant women in Japan. Clin. Vaccine Immunol. 2012;19(3): 365-7.
19. Flatt A, Shetty N. Seroprevalence and risk factors for toxoplasmosis among antenatal women in London: a re-examination of risk in an ethnically diverse population. Eur J Public Health. 2013;23(4):648-52.
20. Alvarado-Esquivel C, Torres-Castorena A, Liesenfeld O, García-López CR, Estrada-Martínez S, Sifuentes-Alvarez A, et al. Seroepidemiology of Toxoplasma gondii infection in pregnant women in rural Durango, Mexico. J Parasitol. 2009;95(2):271-4.
21. Beck S, Konopka CK, Silva AK, Diehl FP. Importância do rastreamento sorológico da toxoplasmose em gestantes atendidas em ambulatório de pré-natal de alto risco. Revista Saúde. 2010;36(1):29-36.
22. Reis MM, Tessaro MM, D'Azevedo PA. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes de um hospital público de Porto Alegre. Rev Bras Ginecol Obstet. 2006;28(3):158-64.
23. Silva BCT, Gonçalves DD, Lopes LF, Diegas PHF, Teixeira VS, Esteves APVS. Toxoplasmose congênita: estratégias de controle durante o pré-natal. Rev Cad Med. 2019;2(1):16-26.
24. Lovison F, Rodrigues RM. Incidência e prevalência da toxoplasmose na região sul do Brasil: revisão bibliográfica. Rev Saúde Públ Santa Cat. 2017;10(3):61-75.

Controle da qualidade laboratorial: implementação de valores de referência próprios determinados no controle interno

Quality control laboratory: implementation of proper reference valeus determinated by internal control

Evandro Brandelero[1], *Flavia Debiasi Tessari*[2]

[1] Mestre/Unoesc - Universidade do Oeste de Santa Catarina - campus Videira. Videira, SC, Brasil.

[2] Auxiliar de Laboratório/Unoesc - Universidade do Oeste de Santa Catarina - campus Videira. Videira, SC, Brasil.

Resumo

Objetivo: Esse estudo consistiu em analisar a confiabilidade e a eficácia dos métodos do controle interno da qualidade das bioquímicas em um laboratório privado, a partir da criação dos próprios valores de referência, utilizando como ferramentas o gráfico de Levey - Jennings e regras de Westgard. Métodos: Foram estabelecidos nesse estudo os próprios valores de referência para cada analito, dispostos os valores de qualidade diários nos gráficos e realizadas as interpretações para validação do teste. Resultados: Através da implementação dos valores próprios de referência e um controle de qualidade mais rígido, foi possível identificar uma melhor estabilidade dos analitos, melhor percepção dos erros aleatórios, sistemáticos e tendenciosos, obtendo informações mais confiáveis e efetivas perante os controles. Conclusão: Os resultados desta análise indicam uma maior estabilidade e uma menor variabilidade dentro dos valores de referência criados, resultando em exames mais precisos e seguros.

Palavras-chave: Controle de Qualidade; Valores de Referência; Gráfico; Regras de Decisão Clínica

Abstract

Objective: This study consisted of analyzing the reliability and effectiveness of the methods of internal quality control of biochemists in a private laboratory, from the creation os their own reference values, using the Levey-Jennings chart and Westgard rules as tools. Methods: In this study, the reference values for each analyte were created, the daily quality values were displayed on the graphs, and the interpretations were carried out to validate the test. Results: Through the implementation of proper reference values and stricter quality control, it was possible to identify better stability of the analytes, better perception os random, systematic and biased errors, obtaining more reliable and effective information from the controls. Conclusion: The results of this analysis indicate greater stability and less variability within the created reference values, resulting in more accurate examinations.

Keywords: Quality Control; Reference Values; Graphic Novel; Clinical Decision Rules

Correspondência
Flavia Debiasi Tessari
Unoesc - Universidade do Oeste de Santa Catarina - campus Videira
Rua Helia Maria Braga Ferlin, 119
E-mail: flaviadebiasi@hotmail.com

Recebido em 05/07/2021 | Aprovado em 17/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202163

INTRODUÇÃO

O controle da qualidade é um sistema ativo e complexo, envolvendo todos os setores de uma empresa, com o propósito de aperfeiçoar e garantir a qualidade final do serviço prestado.[1] Nas análises clínicas, o controle da qualidade é imprescindível, tendo em vista a necessidade de um resultado seguro e confiável para um diagnóstico médico preciso, visto que algumas tomadas de decisões são cruciais, urgentes e irreversíveis. Desta maneira, os laboratórios clínicos vêm aprimorando seu sistema interno da qualidade com o uso de métodos alternativos adequados às normas técnicas, reduzindo ao mínimo as falhas e interferências.[2,3]

No laboratório de análises clínicas, o controle de qualidade deve envolver todas as etapas do processo, sendo elas a pré-analítica, analítica e pós-analítica.[4] A etapa pré-analítica engloba o requerimento da análise, a coleta da amostra e a triagem inicial da análise. A etapa analítica reúne todos os procedimentos necessários para execução da análise e, em seguida, a etapa pós-analítica, do alcance do resultado até a dispensa do laudo.[5] Qualquer laboratório de análises clínicas deve dispor de manuais de procedimentos operacionais padrão (POPs) abrangendo orientações e dados inerentes à rotina laboratorial.[6] Os POPs devem retratar minunciosamente as práticas laboratoriais, desde a fase pré-analítica até a pós-analítica, contendo explicações sobre o manejo correto com os equipamentos, precauções de biossegurança e detalhes dos processos técnicos. Esse procedimento tem como objetivo a padronização das técnicas por parte de todos os envolvidos, assegurando a qualidade final do serviço prestado. Sendo assim, o uso adequado desses procedimentos diminui os erros e faz com que as ações arriscadas não se tornem rotineiras.[7]

A área da saúde deve sempre se basear em evidências científicas, englobando parâmetros próprios para os ensaios bioquímicos. O valor de referência dos controles é um dos segmentos mais relevantes na análise laboratorial, visto que auxilia os profissionais na liberação de um resultado coerente, futuro diagnóstico e tratamento do paciente. Todavia, a origem desses valores raramente é determinada pelos laboratórios, e frequentemente são usados controles comerciais sem considerar as individualidades, como aparelho e reagentes utilizados, por exemplo.[8]

As amostras utilizadas como controle dispõem de valores preestabelecidos e sua supervisão é efetuada através de ensaios estatísticos, considerando valor de média, desvio padrão e coeficiente de variação. Para tanto, utilizam-se os gráficos de Levey-Jennings e as regras múltiplas de Westgard para interpretação, técnicas empregadas mundialmente na análise dos controles internos de qualidade.[9] Em 1950 Levey-Jennings introduziu os gráficos no laboratório de análises clínicas e em 1952 Henry e Segalove simplificaram e popularizaram os gráficos para utilização em amostras de controle.[3] O gráfico de Levey-Jennings permite que os resultados obtidos de controle interno sejam inseridos e confrontados com os "Limites Aceitáveis de Erro (LAE)" para cada analito, que é de dois desvios padrão. No momento em que o valor do controle obtido fica fora do LAE, ou seja, excede a média de mais ou menos dois desvios padrão, demonstra a possibilidade de falha no processo, indicativo de que esse analito não está reproduzindo da forma esperada.[10]

Com os valores próprios de referência dos controles sendo introduzidos, supervisionados diariamente no gráfico de Levey-Jennings e interpretados pelas regras múltiplas criadas por Westgard, procedimento utilizado para avaliar a aceitação ou rejeição de uma corrida analítica,[11] o acompanhamento das amostras controle é simplificado, pois são fáceis de serem visualizadas as tendências e os erros aleatórios e/ou sistemáticos. Esse trabalho é um desafio constante para o laboratório clínico, mas esse processo pode minimizar custos, diminuir erros e imprecisões, gerando resultados mais exatos e precisos.[3]

Interpretação pelas regras múltiplas de Westgard

As regras ajudam no entendimento dos resultados de controle, verificando de forma íntegra os dois níveis de cada analito. A utilização das regras auxilia na identificação de todas as situações possíveis, facilitando a detecção de perda de estabilidade de algum analito e, quando violadas, devem ser verificados e encontrados os possíveis causadores do problema e tomadas ações preventivas e/ou corretivas, dependendo do caso. Para tanto, os resultados dos controles foram alimentados no gráfico e aplicando-se as regras.

A regra: 1^3s é quando um dos níveis do controle excedem o limite de ±3DP. Os resultados desse analito não podem ser liberados, pois indicam um aumento do erro aleatório ou um erro sistemático. A regra 1^2s é quando um dos controles excede o limite de ±2DP, e nesse caso os resultados também não devem ser liberados, pois estão acima do estipulado pelo laboratório. Quando houve a quebra dessas duas regras, os controles foram repassados, certificando-se da qualidade da preparação dos mesmos e correta homogeneização. Quando a segunda passagem dos controles se apresentava dentro dos ±2DP o resultado era aceito, indicando uma não

conformidade com a alíquota controle. Quando repetido e os valores ainda estavam superiores a ±2DP, os testes precisavam ser calibrados e repetidos mais uma vez. A regra 2^2s é quando os dois níveis do controle excedem o limite ±2DP, indicando um erro sistemático, e então os resultados não devem ser liberados. A regra 4s é quando a diferença entre os dois controles excede 4DP, representando um erro aleatório. A regra 4^1s é quando quatro valores consecutivos de um controle excedem ±1DP, indicando um erro sistemático. A regra 7x é quando os valores permanecem do mesmo lado da média por 7 dias consecutivos, mesmo dentro de ±1DP. A regra 7t é quando os valores estão decrescendo ou crescendo por 7 dias consecutivos, não sendo necessário ultrapassar ±1DP. Significa um erro de tendência sistemático. A regra 10x é quando os valores estão no mesmo lado da média em 10 dias consecutivos, não sendo necessário ultrapassar ±1DP, indicando um erro de tendência sistemático.[12]

Um resultado analítico depende diretamente da qualidade da água utilizada e dos equipamentos. Elementos analíticos como esses precisam ser monitorados e otimizados, pois o mau uso pode acarretar falha nos resultados. A água em um laboratório clínico é o reagente mais utilizado, visto as diversas funções que exerce, como diluições das amostras, reconstituição dos controles e calibradores, preparação das soluções de limpeza e enxague, alimentação dos equipamentos, lavagem de vidrarias, entre outras. É também facilmente contaminável, por isso é necessário passar pelo tratamento adequado e um rígido controle de qualidade antes do seu uso. A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 302:2005 recomenda que os laboratórios de análises clínicas durante a fase analítica utilizem como controle de qualidade a aferição do grau de pureza da água utilizada.[13]

Somente através da implantação de um controle de qualidade eficaz em todos os pontos, podem-se obter resultados mais exatos, ou seja, resultados que tenham o valor verdadeiro do analito e resultados mais precisos, gerando valores iguais quando uma amostra for repetida várias vezes.[14] Na área da saúde, mais do que corresponder aos interesses dos seus clientes, procura-se constantemente aprimorar as metodologias, com o intuito de minorar as ameaças à vida do paciente, conduta essa demonstrada na entrega de informações diagnósticas coesas e fiéis, no momento em que ela for vital. Para isso, é necessário controlar de forma efetiva todos os métodos utilizados, reconhecendo prováveis erros, assim que eles se apresentarem, e manter-se apto para agir instantaneamente sobre ela.[14]

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma pesquisa laboratorial de caráter qualitativo descritivo em um laboratório de análises clínicas na cidade de Videira, em Santa Catarina, com objetivo de criar os valores próprios de referência para os controles de qualidade internos das bioquímicas, implementação e acompanhamento dos dados gerados nos gráficos de Levey-Jennings, interpretados pelas regras múltiplas de Westgard.

O laboratório faz uso de amostras controles comerciais em dois níveis (normais e patológicos) da marca Labtest e o aparelho utilizado para as análises é o modelo Labmax 240, também da marca Labtest. O controle interno realizado pelo laboratório era inicialmente baseado nos dados disponibilizados em bula, usando como critério de aceitação e rejeição ±2DP. Para realização do presente estudo, foram acompanhadas as rotinas analíticas, a preparação das alíquotas de controle interno e as condições gerais do equipamento.

Implantação dos próprios valores de referência dos controles de qualidade interna

Para a implantação dos valores próprios de referência dos controles, inicialmente foram avaliadas a exatidão, a precisão e a repetição do controle. Para isso, foram realizadas 20 corridas analíticas, sendo uma corrida por dia, por 20 dias consecutivos, nas mesmas condições em que se dosam as amostras de pacientes, utilizando os controles comerciais dos dois níveis, para cada analito. A partir dos resultados obtidos, foi determinada a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação de cada analito, nos dois níveis, para determinar os novos valores (próprios) de referência do controle interno.

Implantação dos gráficos de Levey-Jennings

Depois de obtidos os resultados, foram estimados a média e o desvio padrão através do programa Excel. A partir dos dados, foram gerados dois gráficos, um para cada nível de controle.

No eixo X, horizontal, foi acomodada a escala de dias corridos, de 1 a 31, e foi nomeado como "dia da corrida analítica". No eixo Y, vertical, apresentam-se os valores encontrados nos controles e o gráfico foi regulado para acondicionar o menor e o maior valor esperado[15]. Por isso, os gráficos foram criados baseados em ±4DP. Para incluir os valores nas linhas, foi necessário então seguir a seguinte ordem, de cima para baixo do gráfico: na primeira linha média + 4DP, na segunda linha média +3DP, na terceira linha média +2DP, na quarta

linha média +1DP, na quinta linha o valor da média, na sexta linha média -1DP, na sétima linha média -2DP, na oitava linha média -3DP, na nona linha média -4DP. Esse eixo foi titulado como "valores dos controles internos".

Os valores encontrados para cada analito foram introduzidos nos gráficos e cada valor encontrado deve permanecer dentro do limite estipulado de ±2DP, comumente utilizado pelos laboratórios. O esperado é que se mantenham aproximadamente a metade de cada lado da média.[3]

RESULTADOS

A implantação dos valores próprios de referência dos controles internos obteve os resultados esperados, de fácil observação e entendimento, deixando os analitos visualmente estáveis e facilitando o trabalho dos profissionais. O analito glicose, conforme bula do controle Qualitrol nível 1, possui um intervalo proposto de 78 a 106, com valor de média 92. E conforme bula do controle Qualitrol nível 2, com intervalo proposto de 213 a 288, com valor de média 255.

A partir das 20 corridas analíticas e determinação dos valores próprios de referência dos controles, foi obtido para o nível 1, um intervalo de 84 a 102, com valor de média 93,50. A amplitude de variação dos resultados obtidos foi 83 a 101 (Figura 1), um desvio padrão de 4,33 (Figura 2) e um coeficiente de variação de 4,64.

Na Figura 3 são apresentados os valores individuais das medições da glicose, nível 1 (valores normais), transcorridas durante o mês, após a implantação dos valores próprios de referência do controle interno de qualidade (CQI). É possível verificar que o analito se manteve estável e reproduzindo de acordo com o esperado. Não houve quebra de nenhuma regra e todos os pontos se mantiveram dentro dos dois desvios padrão, intercalando-se com frequência acima e abaixo da média.

Para o nível 2, foi obtido um intervalo de 236,73 a 281,87, com valor de média 259,30. A amplitude de variação dos resultados obtidos foi de 245 a 279 (Figura 4), um desvio padrão de 11,29 (Figura 5) e um coeficiente de variação de 4,35.

Na Figura 6 são apresentados os valores individuais das medições da glicose, nível 2 (valores patológicos), transcorridas durante o mês, após a implantação dos valores próprios de referência do controle interno de qualidade (CQI). É possível verificar que nesse caso o analito também se manteve estável e reproduzindo de acordo com o esperado. Não houve quebra de nenhuma regra e todos os pontos se mantiveram dentro dos dois desvios padrão, intercalando-se com frequência acima e abaixo da média.

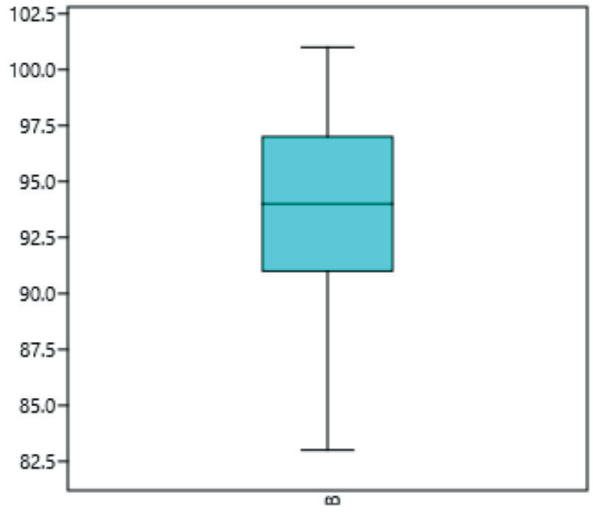


Figura 1
Amplitude de variação dos resultados obtidos do Qualitrol nível 1.

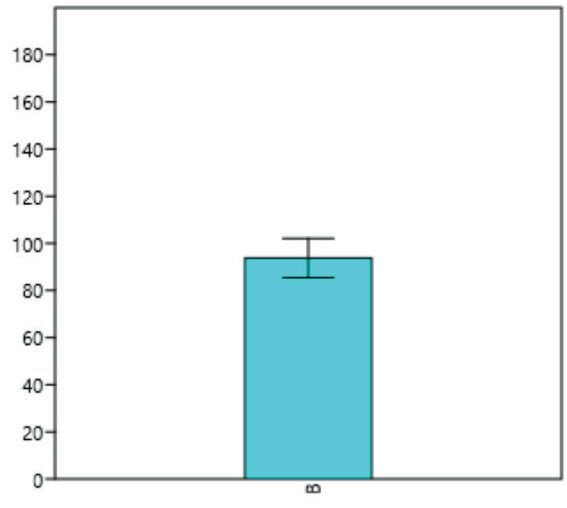


Figura 2
Valor de média e desvio padrão.

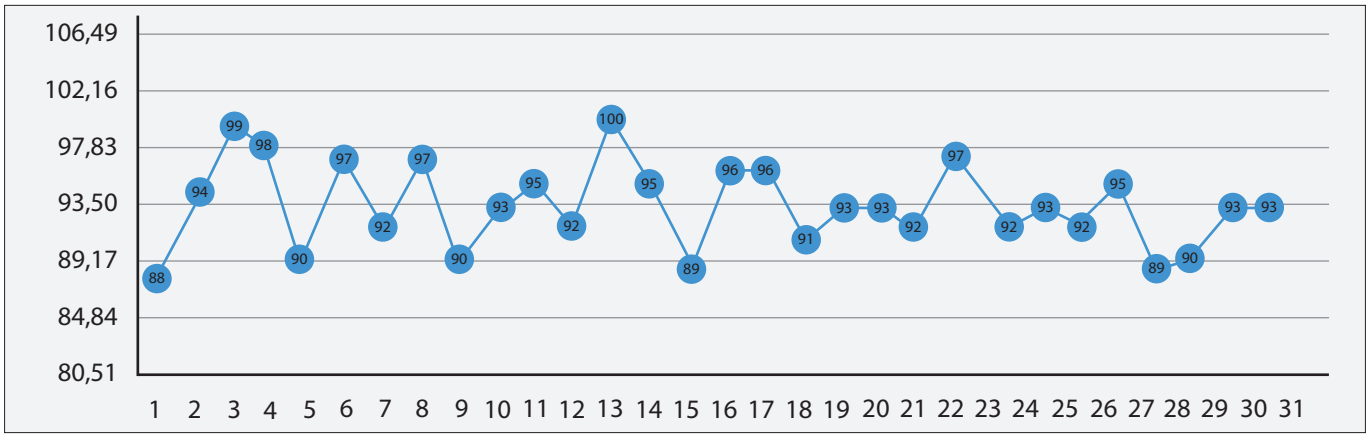


Figura 3

Valores da glicose obtidos com os próprios valores de referência do CQI nível 1.

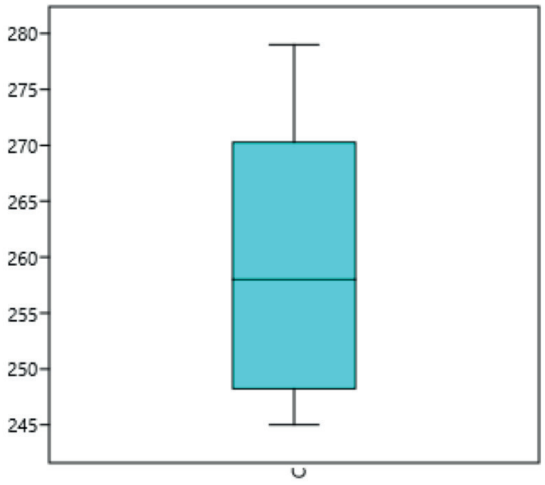


Figura 4

Amplitude de variação dos resultados obtidos do Qualitrol nível 2.

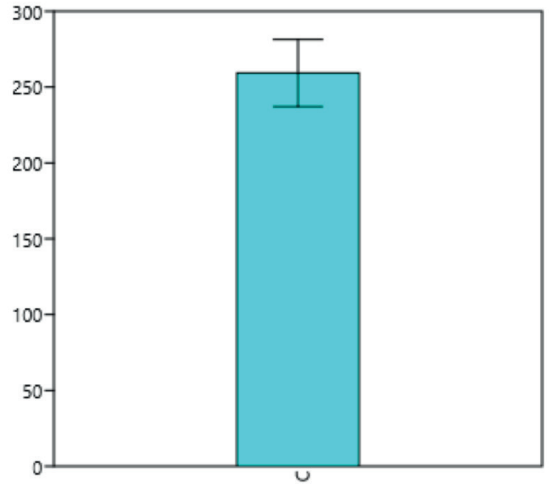


Figura 5

Desvio padrão obtido da glicose no Qualitrol nível 2.

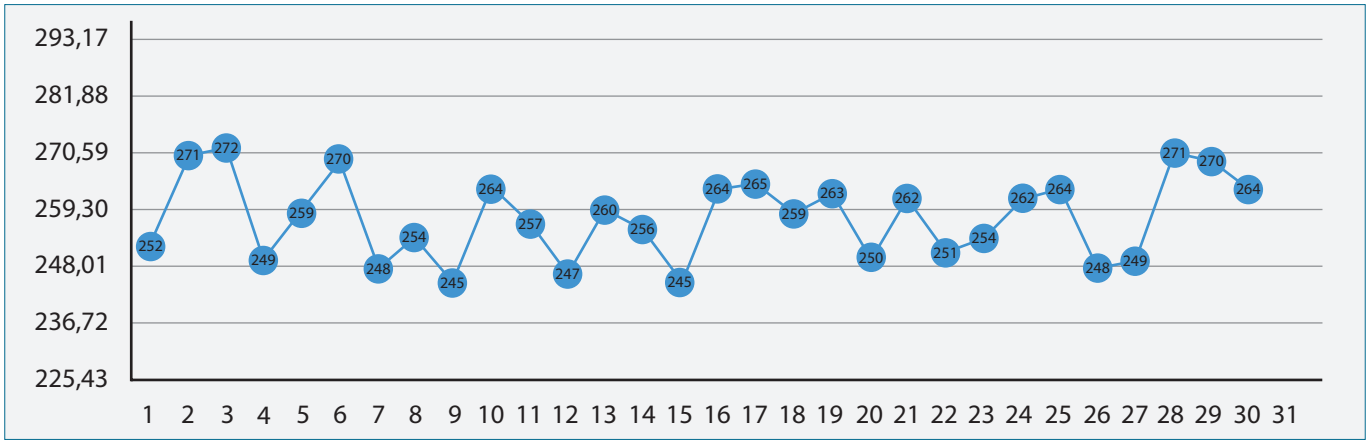


Figura 6

Valores da glicose obtidos com os próprios valores de referência do CQI nível 2.

DISCUSSÃO

A melhoria contínua da qualidade dentro dos processos de qualquer organização se faz necessária para garantir serviços e produtos excelentes, que atendam a todas as necessidades do cliente, entregando não somente o que lhes foi solicitado, mas superando suas expectativas. Na área da saúde, a prioridade fundamental é minimizar os erros, visto que estes podem colocar em risco a vida dos pacientes. Desta forma, nota-se a relevante importância de todos os processos que norteiam a qualidade interna do laboratório clínico, garantindo a liberação de um resultado confiável e extremamente fidedigno à situação do paciente. Para tanto, os usos de ferramentas de garantia de qualidade auxiliam em cada etapa do processo, permitindo a identificação e correção de falhas antes da liberação do resultado.

Com o presente estudo foi possível implantar uma ferramenta utilizada mundialmente como controle de qualidade, para aprimorar o controle interno das bioquímicas. Observou-se que inúmeras variantes podem interferir na análise clínica de um analito, gerando perdas de exatidão, precisão e tendências. Entre eles pode-se citar:

A qualidade da água utilizada, a forma de armazenamento das alíquotas controle, que depois de reconstituídas devem ficar na temperatura de -8°C a -30°C e protegidas da luz, sendo que alguns analitos como as bilirrubinas, são fotossensíveis.

A temperatura do banho-maria utilizada para reconstituição das alíquotas, que devem estar a até 37°C, a homogeneização da alíquota antes da introdução no aparelho, o lote do controle utilizado, pois para cada lote do controle comercial, deve-se refazer as 20 corridas analíticas e recalcular, obtendo os seus próprios valores de referência.

Condições de armazenamento dos reagentes usados, validade e preparação dos mesmos. Limpeza e condição dos materiais utilizados, falhas na operação do equipamento, defeitos no aparelho, sujeira e/ ou formação de fibrina na agulha, cubetas sujas ou riscadas, vida útil da lâmpada do aparelho, falta de homogeneização dos reagentes, formação de bolhas nos reagentes ou na alíquota controle, deterioração dos reagentes, principalmente os enzimáticos, que são menos estáveis.

Todos esses pontos devem estar registrados nos Procedimentos Operacionais Padrão (POPs), e quando seguidos à risca por todos os integrantes da equipe é possível reduzir as falhas e obter os resultados desejados. Em alguns casos, para deixar o controle dentro dos ±2DP esperados, foi necessário descartar o reagente e preparar um novo, descartar as alíquotas controles e preparar novas, pois por algum motivo perderam a estabilidade. Refazer o controle interno da água reagente, realizar a calibração de alguns analitos, trocar a lâmpada e as cubetas do aparelho, treinar os envolvidos para as manutenções preventivas e corretivas dos equipamentos, como a limpeza diária da agulha e lavagem das cubetas.

Mediante essas ações preventivas e corretivas que transcorreram durante o período do estudo, a implantação dos próprios valores e aplicação das regras no gráfico, obtivemos resultados com um excelente desempenho, apresentando uma baixa amplitude de variação entre os dias testados. Os resultados dos controles próprios de qualidade interna, quando dosada a glicose, reproduziram muito bem nos dois níveis. Foram testados outros 23 analitos e foi possível constatar o mesmo desempenho em todos.

CONCLUSÃO

Foi possível constatar que implementando os próprios valores de referência dos controles de qualidade interna, monitorando os mesmos pelo gráfico de Levey-Jennings e interpretando-o pelas regras múltiplas de Westgard, os analitos apresentaram-se minunciosamente mais estáveis, sendo possível observar a formação de tendências, evitando a quebra das regras, resultando em exames seguros e confiáveis, com a liberação de um laudo coeso, facilitando o diagnóstico e tratamento desse paciente.

REFERÊNCIAS

1. Paladini EP. Qualidade total na prática. Implantação e avaliação dos sistemas de qualidade total. São Paulo: Atlas; 1997.
2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução RDC nº 302, de 13 de outubro de 2005. Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. [portaria na Internet]. Diário Oficial da União 13 out 2005 [acesso em 23 abr 2021]. Disponível em: https://pncq.org.br/wp-content/uploads/2020/05/RDC-302-2005.pdf.
3. Motta VT. Bioquímica clínica para o laboratório: Princípios e interpretações. Caxias do Sul: EDUCS; 2003.
4. Chaves CD. Controle de qualidade no laboratório de análises clínicas. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. 2010; 46(5).
5. Garcia LS, Bruckner DA. Diagnostic Medical Parasitology. 3 ed., Washington: ASM Press, 1997.
6. Souza RF, Amor ALM. Controle de qualidade de técnicas realizadas nos laboratórios de parasitologia da Secretaria Municipal de Saúde do Município de Salvador, Bahia. RBAC 2010; 42(2): 101-6.
7. Agência Nacional de Vigilância Sanitária [homepage na Internet]. Segurança e controle de qualidade no laboratório de microbiologia clínica. [acesso em 03 abr 2021]. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br

8. Rosenfeld LG, Silva Júnior JB. Valores de referência para exames laboratoriais de hemograma da população adulta brasileira: pesquisa nacional de saúde. Revista Brasileira de Epidemiologia [periódico na Internet]. 2019 Fev [acesso em 25 abr 2021]; 22(2). Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbepid/a/79JFJqJnBqcpgFL4CHVGdxS/?lang=pt
9. Teodoro FR, Rabelo MS. Aplicação e adequação dos controles internos e externos de qualidade nos laboratórios de análises clínicas de Uruaçu, Goiás. Uruaçu. Monografia [Especialização em Gestão da Qualidade para Laboratório de Análises Clínicas] - Universidade Cruzeiro do Sul; 2013 [acesso em 23 abr 2021]. Disponível em: https://ceafi.edu.br/site/wp-content/uploads/2019/05/aplicao-e-adequao-dos-controles-internos-e-externos-de-qualidade-nos-laboratrios-de-anlises-clnicas-de-uruau-gois.pdf
10. Lopes HJJ. Garantia e Controle da Qualidade no Laboratório Clínico Gold Analisa Diagnóstica [periódico na Internet]. 2003 [acesso em 25 abr 2021]. Disponível em: http://www.goldanalisa.com.br/arquivos/%7B8530AFBA-AE96-4413-90EE-9C929C896B39%7D_Garantia_e_Controle_da_Qualidade_no_Laboratorio_Clinico[1].pdf
11. Westgard JO. Regras Múltiplas e "Regras de Westgard": O que são? Controllab. [periódico na internet]. 2003 [acesso em 20 abr 2021]. Disponível em: https://so.controllab.com/pdf/westgard_o_que_sao.pdf
12. Qualichart [homepage na Internet]. Regras múltiplas: As regras de Westgard no Controle da Qualidade dos Laboratórios Clínicos [acesso em 27 abr 2021]. Disponível em: https://www.qualichart.com.br/lp/regras-de-westgard-regras-multiplas.html
13. Mendes ME, Fagundes CC, Porto CC, Bento LC, Costa TGR, Santos RA, et al. A importância da qualidade da água reagente no laboratório clínico. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial [periódico na Internet]. 2011 Jun [acesso em 03 mai 2021]; 47(3). Disponível em: https://www.scielo.br/j/jbpml/a/8sgJW4hxRbjp5QCqyY9Q4hx/?format=pdf&lang=pt
14. Berlitz FA. Controle da qualidade no laboratório clínico: alinhando melhoria de processos, confiabilidade e segurança do paciente. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial [periódico na Internet]. 2010 Out [acesso em 03 mai 2021]; 46(5). Disponível em: https://www.scielo.br/j/jbpml/a/4WDGyv4yhv8fWnKXLVGnZRD/?format=pdf&lang=pt
15. Corrêa JA. Garantia da qualidade no laboratório clínico. 3° edição. Rio de Janeiro: PNCQ; 2011.

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/*Instructions for authors*

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: trabalhos 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", ".tif" ou ".png" 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**
Título 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	**Ackouledgements**
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", "tif" ou ".png" 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 **GNPapers**, no endereço: www.gnpapers.com.br/rbac/. 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 GNPapers, 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 GNPapers 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: ____/_____/_____.

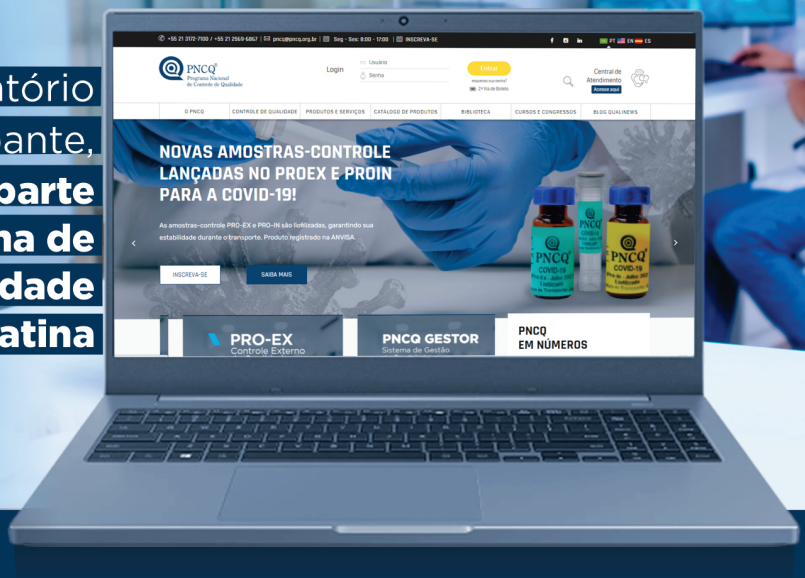


Novo
MANUAL DO LABORATÓRIO PARTICIPANTE

Amostras-controle disponíveis ←
Metodologias de Avaliação do PRO-EX ←
Gráfico de Tendência e DRM **(GRÁTIS)** ←
PRO-IN em Tempo Real **(GRÁTIS)** ←
Indicadores de desempenho **(GRÁTIS)** ←
Placas, Selos e muito mais!

Faça o **download!**

Caso seu laboratório ainda não seja participante, **inscreva-se e faça parte do maior programa de controle de qualidade da América Latina**



Nossas certificações:

O PNCQ é acreditado pelo Cgcre do INMETRO como Provedor de Ensaio de Proficiência em conformidade com a ABNT NBR ISO/IEC 17043:2011 sob o número 0013
PEP 0013

O PNCQ é acreditado pelo Cgcre do INMETRO como Produtor de Material de Referência em conformidade com a ABNT NBR ISO 17034:2017 sob o número 0012
PMR 0012

BPF
Certificado ANVISA
Boas Práticas de Fabricação

PNCQ®
Programa Nacional
de Controle de Qualidade
Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

(21) 3172-7100 | 2569-6867
pncq@pncq.org.br
Rua Vicente Licínio, 193 - Tijuca
Rio de Janeiro/RJ CEP: 20270-340

@PNCQoficial
@pncqoficial
company/pncq-oficial

www.pncq.org.br