SBAC

RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas

Brazilian Journal of Clinical Analyses

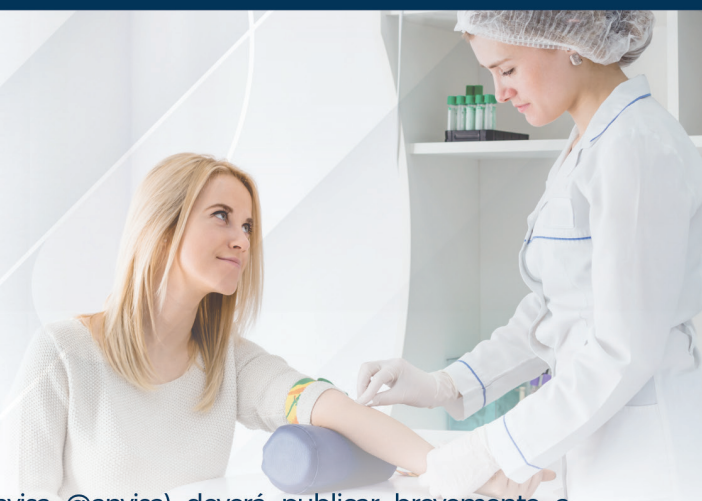
Volume 54 - N 02 | Ano 2022

ISSN 2448-3877



INFORME PUBLICITÁRIO

ALERTA DE SAÚDE À POPULAÇÃO



A Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (#anvisa @anvisa) deverá publicar brevemente a atualização da RDC 302/2005, considerada um marco regulatório dos Laboratórios Clínicos e, consequentemente, para a garantia da qualidade dos exames laboratoriais da população do Brasil.

A Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC, entidade científica de maior representatividade no país, está confiante que essa nova redação da RDC 302, mantenha o foco na garantia da qualidade dos exames laboratoriais sob a vigilância da instituição laboratorial.

Exames fazem parte de uma complexa cadeia de cuidado impactando diretamente nas condutas médicas e nos tratamentos. Exames salvam vidas, quando seus resultados são confiáveis.

Com a pandemia, testes de triagem para a COVID-19 foram realizados fora do ambiente de supervisão do laboratório com a intenção exclusiva de ampliar a testagem e combater a pandemia. Esta ação confirmou o protagonismo das Análises Clínicas, pois evidenciou a necessidade de confirmação laboratorial dos resultados de triagem.

Por mais que existam interesses das empresas e associações comerciais na comercialização de outros testes laboratoriais fora do ambiente do laboratório sob o pretexto de oferecer inovação, aumentar a acessibilidade da população aos exames e valorizar algumas categorias profissionais, não podemos colocar a vida das pessoas em risco.

O estabelecimento dedicado exclusivamente às Análises Clínicas é o Laboratório!Não há no Brasil, estabelecimento da área da saúde mais regulamentado e fiscalizado, tamanha relevância e impacto que o resultado de um exame pode causar na vida de um indivíduo. Portanto, a SBAC entende que qualquer estabelecimento que venha a realizar exames laboratoriais deve seguir rígidas normas sanitárias e as mesmas exigências regulatórias dos Laboratórios de Análises Clínicas, a fim de preservar a integridade dos resultados e garantir a segurança do paciente.

A SBAC apoia ações pela vida!

Junto a essa declaração, você está recebendo uma carta de alerta à população. Compartilhe com seus pacientes. Com certeza eles irão valorizá-lo ainda mais.

Apenas o laboratório está adequadamente preparado para realizar uma coleta confiável e supervisionadas seguindo os mais rígidos padrões de qualidade exigidos pelos órgãos regulamentadores.

SBAC
Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

/sbacorg /sbacoficial

Saiba mais em:
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 - Número 2 - 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
Jaime Antonio Abrantes - 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 2/*Number 2*

Sumário / *Contents*

Editorial / Editorial

101 **A história do exame de urina: Idade média**
The history of urine examination: Middle age
Neufeld PM

Artigos de revisão / *Review articles*

105 **CRISPR-Cas9 na terapia gênica de carcinoma papilífero de tireoide e limites éticos nas modificações da espécie**
CRISPR-Cas9 in the gene therapy of papillary thyroid carcinoma and ethical limits in species modifications
Liebel K, Toni JV, Imamura KB

111 **Interferência *in vivo* e *in vitro* de medicamentos na avaliação da glicemia: uma revisão da literatura**
In vivo *and* in vitro *interference of medications in the evaluation of glycemia: a review of the literature*
Mello PA, Rocha BG, Oliveira WN, Mendonça TS, Domingueti CP

119 **Hantavirose: uma zoonose emergente e a necessidade de um diagnóstico rápido por RT-PCR**
Hantavirose: an emerging zoonosis and the need for rapid diagnosis by RT-PCR
Vieira WB

125 **Estudo microbiológico de amostras de água provenientes de farmácias e de centrais de materiais e esterilização hospitalares**
Microbiological study of water samples from pharmacies and hospital material and sterilization centers
Stüker B, Martini R, Weiss RDN, Paraginski VTK, Bach BC

Artigos originais / Original articles

132 **Incidência de parasitoses em uma comunidade quilombola de Joinville, Santa Catarina**
Incidence of parasitosis in a quilombola community of Joinville, Santa Catarina
Niedermaier A, Gozdziejewski CE, Simones LA, Savi DC

139 **Comparação dos interferentes nas metodologias de química líquida e química seca na fase pré-analítica dos exames laboratoriais**
Comparison of interferences in liquid chemistry and dry chemistry methodologies in the pre-analytical phase of laboratory tests
Zanetti MJR, Wolf JM, Grando AC

148 **Avaliação do perfil lipídico em gestantes acompanhadas na rede pública de saúde em um município do estado de Minas Gerais**
Lipid profile assessment in pregnant women followed in the public health network in a municipality of in Minas Gerais State
Fróis LF, Lima AAR, Mattos LGG, Toloni MHA, Teixeira LG

156 **Uso etnofarmacológico do óleo de côco: inibição de *Candida* sp., *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa***
Ethnopharmacological use of coconut oil: inhibition of Candida *sp.,* Escherichia coli *and* Pseudomonas aeruginosa
Andreola R, Cruz VC, Dexheimer GM

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 2/*Number 2*

Sumário / *Contents*

161 **Ocorrência de hipotireoidismo e hipertireoidismo em pacientes atendidos no Laboratório de Análises Clínicas de um Centro Universitário do Estado do Pará**
Occurrence of hypothyroidism and hyperthyroidism in patients attended at the Clinical Analyses Laboratory of a University Center of the State of Pará
Gonçalves CES, Nunes E

168 **Perfil epidemiológico do vírus influenza no estado de Pernambuco, no período de 2010 a 2019**
Epidemiological profile of the influenza virus in the state of Pernambuco, from 2010 to 2019
Lima TE, Albuquerque ACC, Nascimento JSC

Comunicações breves/*Short communications*

174 **Anti-SARS-CoV-2 enzyme immunoassays evaluation: Diagnostic characteristics and detection of cross-reactivity in Brazilian samples**
Avaliação de imunoensaios enzimáticos anti-SARS-CoV-2: características diagnósticas e detecção de reatividade cruzada em amostras brasileiras
Bochnia-Bueno L, De-Almeida SM, Nogueira MB, Raboni SM

183 **Avaliação da relação entre cortisol e perfil lipídico através da Análise de prontuários laboratoriais**
Evaluation of the relationship between cortisol and lipid profile through the analysis of laboratory records
Moraes AL, Kirsten KS

188 **Emergência de Enterobacterales produtoras de metalo-beta-lactamases em um Hospital de Referência para Covid-19**
Emergency of Enterobacterales producing metallo-beta-lactamases in a referral hospital for Covid-19
Soares VM, Viegas DM

Relato de caso/*Case report*

193 **Infecções da corrente sanguínea por *Candida* spp. em unidade de terapia intensiva de adultos de hospital terciário na Região Sudeste do Brasil**
Bloodstream infections by Candida *spp. in adult intensive care unit of a tertiary hospital in the southeast region of Brazil*
Andrade IR, Silva BS, Costa GS, Fina ASD

Carta ao Editor/*Letter to Editor*

199 ***Tinea capitis* nos adultos: série de casos e mini-revisão da literatura brasileira**
Tinea capitis *in adults: case series and mini-review of brazilian literature*
Fernandes NC, Barreiros G

202 **Instruções aos autores/*Instructions for authors***

A história do exame de urina: Idade média

The history of urine examination: Middle age

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

Durante a idade média, o exame macroscópico de urina [uroscopia] atingiu elevados níveis de dominância diagnóstica, tendo em vista que quase todas as condições clínicas eram identificadas a partir das diferentes características e alterações apresentadas pela urina dos pacientes. Como já mencionado nessa série de textos sobre a história do exame de urina, o escritor Theophilus Protospatharius [século VIIdC], médico de Heráclito [575-641], Imperador Bizantino entre o período de 610 a 641, escreveu um importante texto que versava exclusivamente sobre a uroscopia, denominado *De Urinis*, onde preconizava aplicações mais práticas dos ensinamentos de Hippocrates e Galeno. O livro descrevia uma gama de cores exibidas pela urina e suas correlações com diversas doenças. Theophilus Protospatharius propôs ainda a adição de calor à urina para aumentar o seu poder discriminativo, inventando, dessa feita, a primeira técnica laboratorial documentada. Um médico e neoplatonista judeu, originário do Egito, conhecido com Isaac Ben Salomon Israeli [855-955], posteriormente, publicou manuscritos com estudos, análises críticas e esclarecimentos sobre os textos e as técnicas de Theophilus Protospatharius.

Na realidade, a tradução dos textos bizantinos sobre uroscopia para o latim, realizada pelo monge católico e médico Constatinus Africanus [1015-1082], um dos fundadores da Escola de Medicina de Salerno [*Schola Medica Salernitana*], foi o fato que deu início, a partir do século XIII, efetivamente, à áurea fase da técnica uroscópica na Europa. Com uma escrita rigorosa, didática e natureza prática, esses textos se difundiram e se enraizaram no ideário escolástico da idade média. Em sua obra, *De Instuctione Medici*, Constantinus Africanus afirmava que a urina era melhor que o pulso para se descobrir a doença de um paciente.

Ao se tornar uma ferramenta incomparável de diagnóstico, ajustes e melhorias na uroscopia passaram a ser rotineiramente propostos, de acordo com a experiência que ia sendo acumulada com o tempo. Nesse sentido, observou-se que a técnica de coleta parecia ter grande importância para a correta interpretação. Assim, Ismail Ail-Jurjani [1042-1136], um médico persa que serviu ao Xá Qutbaddin Muhammad ibn Anushtagin [1097-1127] e ao príncipe herdeiro Ala'addaula Atsis [1127-1156], escreveu em seu livro *Zahira-i Khorezm-shahi*, o texto de instruções técnicas sobre coleta e exame de urina mais abrangente da época, que a urina deveria ser coletada em um período de 24 horas em um grande recipiente limpo, mantido longe do sol e do calor, para não alterar a sua cor. O recipiente deveria ter um formato de bexiga, simulando essa peça anatômica, para um diagnóstico "mais preciso". Ismail também acreditava que a alimentação e o envelhecimento alteravam a urina e recomendava, antes da coleta, uma boa noite de sono e jejum para esvaziar o estomago. O livro *Zahira-I Khorezm-shahi* foi muito popular,

Recebido em 02/03/2022 | Aprovado em 08/05/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200078

sendo considerado como uma das principais obras médicas do medievo, com tradução do persa para diferentes idiomas e presente em diversas bibliotecas pelo mundo.

Outros dois médicos, além de Constantinus Africanus, também membros da proeminente Escola de Medicina de Salerno, Giles de Corbeil [1165-1213], médico do rei da França Philipe II [1165-1223], e Bernard de Gordon [1285-1318], de Montpellier, foram, igualmente, de grande importância para a disseminação das habilidades técnicas bizantinas da uroscopia na Europa. No livro *Liber de Urinis*, Giles de Corbeil recapitulou e consolidou os conhecimentos médicos sobre a análise de urina de seu tempo, a partir dos escritos de Theophilus Protospatharius e Isaac Ben Salomon Israeli. Em seus estudos, ele relacionava 20 tipos distintos de urina às condições clínicas do organismo, com base em diferenças no sedimento e na cor. Um recipiente denominado mátula foi introduzido na uroscopia por esse médico francês. Com esse frasco, era possível visualizar a urina e avaliar a cor, consistência e transparência. Arredondada em sua porção inferior e constituída por um fino cristal translúcido, ao ser segurada com a mão direita e colocada contra a luz, permitia uma adequada inspeção. Esse autor tinha a crença de que diferentes partes do recipiente representariam as diferentes partes do organismo humano. Desse modo, uma alteração observada em determinada área do frasco estaria ligada à doença de determinado órgão.

A crescente complexidade da uroscopia levou à criação de gráficos e tabelas para caracterização de todos os tipos observáveis de urina. Com o tempo, a categorização dos aspectos físico-químicos urinários foi ficando cada vez mais elaborada, o que levou também a mudanças na forma da mátula, para corresponder, de forma fidedigna, às áreas do corpo e suas alterações clínicas. De frascos mais rudimentares, a mátula foi sendo transformada em uma ferramenta cada vez mais "precisa" e "funcional" com um gargalo mais alongado para maior firmeza ao segurar, um formato bolhoso à cônico para uma melhor sedimentação, um cesto de vime envolvendo o frasco para suporte ao transportar e várias divisões e gradações inscritas em sua estrutura. Com a turbidez e sua estratificação e a formação de sedimentos foram considerados cada vez mais elementos de diagnóstico, o recipiente foi dividido em quatro níveis, sendo o superior relacionado a doenças da cabeça e os outros níveis restantes denotavam alterações no coração, pulmão e abdômen, bexiga e trato urinário. Essas divisões foram expandidas em 11 e 24 quadrantes para relacionar os órgãos associados a cada cavidade do corpo. Em seu auge, a técnica envolvia vapores de urina destilada, que eram coletados em um receptáculo em forma de corpo humano, dimensionado em 24 níveis. Nesse período, a mátula se transformou no símbolo de distinção da honra médica.

O aumento de complexidade da técnica uroscópica teve ainda a importante contribuição de um livro médico ilustrado, publicado em latim, em 1491, por uma gráfica veneziana, intitulado *Fasiculus Medicinae*. Importa esclarecer que, apesar do nome do médico alemão radicado na Áustria, Johannes de Ketham [?-1490], estar muito associado à compilação e publicação dessa obra, efetivamente, ele nada teve a ver com a editoração desse material. Na realidade, Johannes de Ketham era apenas o proprietário de um dos manuscritos originais que foram utilizados na compilação e edição do texto final do *Fasiculus Medicinae*. De qualquer forma, o livro é um conjunto de seis tratados médicos que versam sobre temas como uroscopia, astrologia, sangria, cuidados médicos de feridas, pragas, dissecação anatômica e saúde feminina. A importância desse texto reside no fato de ter sido o primeiro trabalho ilustrado em medicina a ser impresso

no mundo. As seis ilustrações [xilogravuras] publicadas incluem um gráfico de urina, um diagrama do aparelho circulatório para flebotomistas, um gráfico de feridas, um gráfico de doenças, um diagrama para flebotomistas que associa as partes do corpo humano com os signos do zodíaco [homem do zodíaco] e uma mulher gestante. Em relação à urina e à uroscopia, a obra apresenta uma gravura que contém um grande círculo rodeado por 21 mátulas contendo urina. Cada mátula está associada a uma cor, consistência e sedimento que, por sua vez, refletem o desequilíbrio dos humores e uma determinada condição clínica, permitindo, desse modo, a realização de um "diagnóstico" para a enfermidade exibida pelo paciente.

Aos poucos, o diagnóstico de urina foi se tornando cada vez mais difundido. Os médicos viam na uroscopia uma forma racional, prática e indolor de separar e avaliar o desequilíbrio dos humores, já que a urina oferecia um método não invasivo de análise. Inclusive, vários textos médicos dedicados à uroscopia foram publicados nesse período. A urina tornou-se uma ferramenta diagnóstica exclusiva, pairando superior ao pulso. Essa técnica foi considerada tão fácil de ser executada que, em verdade, qualquer um poderia aprendê-la e interpretá-la. A impressão em brochuras dos gráficos de urina que correlacionavam a cor do fluido com uma determinada patologia popularizou o processo de diagnóstico. Alguns médicos e uroscopistas leigos, inclusive, passaram a clinicar com o apoio da análise uroscópica sem examinar o paciente pessoalmente. Em decorrência disso, a uroscopia acabou atraíndo centenas de charlatães. Algumas pessoas chagavam a dizer que eram capazes de prever o futuro [uromancia] e identificar bruxas, apenas observando a urina do indivíduo.

Com uma fama decadente, a uroscopia foi do "céu para o inferno". Diversos autores passaram a escrever textos ridicularizando a técnica e seus executores. Como consequência, a habilidade de médicos e uroscopistas passou a ser questionada e testada pela entrega de urinas adulteradas. Desse modo, surgiram textos médicos acerca de como fazer perguntas para validar uma urina antes de examiná-la e como relatar seus resultados, para evitar perdas de reputação. Johannes Actuarius [1275-1328] de Constantenopla, médico-chefe do império bizantino, alertou sobre os perigos do diagnóstico baseado apenas na urina sem a presença do paciente, bem como escreveu um grande tratado dividido em sete livros, conhecido como *De Urinis*. Nele, o autor procurou explicar, exaustivamente, o metabolismo e a fisiologia do organismo com base na teoria dos quatro humores, a partir do exame de urina e dos demais fluidos e resíduos corporais. Johannes Actuarius também alterou a forma de sua mátula, a fim de refinar a precisão diagnóstica.

Thomas Linacre [1460-1524], médico dos reis Henrique VII e VIII da Inglaterra, e John Collop [1625-1676], um médico inglês, foram outros clínicos que também duvidaram do valor da uroscopia. Panfletos como o *Piss-Pote Prophet,* escrito por Thomas Bryan, em 1637, e o *Piss-Prophet*, escrito por John Collop, em 1657, satirizaram o uso da uroscopia como ferramenta diagnóstica. Um importante livro sobre as falácias do exame de urina, o *De Vulgi Erroribus in Medicina*, foi ainda publicado, em 1639, pelo médico inglês James Primrose [1598-1659]. Por fim, a mátula passou a representar um símbolo do ridículo profissional.

Apesar da pouca evolução científica, as principais contribuições da uroscopia para a ciência da urinálise foram as descrições da gravidade específica e a descoberta das proteínas e elementos químicos, incluindo, a uréia, por Johann Baptista Van Helmont [1579-1644].

BIBLIOGRAFIA

Antic T, DeMay RM. The fascinating history of urine examination. J Am Soc Cytopathol. 2014; 3(2):103-107.

Armstrong JA. Urinalysis in Western culture: a brief history. Kidney Int. 2007; 71(5):384-7.

Cameron JS. A history of urine microscopy. Clin Chem Lab Med. 2015; 53 (Suppl 2): s1453-64.

Eknoyan G. Looking at the urine: the renaissance of an unbroken tradition. Am J Kidney Dis. 2007; 49(6):865-72.

Kampmann J & Ann-Kathrine Schou Teglgård AKS. Urininspektionens historie fra uroskopi til urinanalyse. Ugeskr Læger 2017;179 (50): V69574.

Magiorkinis E, Diamantis A. The fascinating story of urine examination: From uroscopy to the era of microscopy and beyond. Diagn Cytopathol. 2015; 43 (12): 1020-36.

Voswinckel P. From uroscopy to urinalysis. Clin Chim 2000; 297 (1-2): 5-16.

CRISPR-Cas9 na terapia gênica de carcinoma papilífero de tireoide e limites éticos nas modificações da espécie

CRISPR-Cas9 in the gene therapy of papillary thyroid carcinoma and ethical limits in species modifications

Keyla Liebel[1], *Jufner Vaz Toni*[2], *Kely Braga Imamura*[3]

[1] UNYLEYA, Genética de microrganismos – Brasília, DF, Brasil.

[2] UNYLEYA, Oncologia Farmacêutica – Brasília, DF, Brasil.

[3] UNYLEYA, Oncologia Farmacêutica; UNYLEYA, Genética de microrganismos – Brasília, DF, Brasil.

Resumo

O CRISPR-Cas9 é um dos sistemas mais estudados da última década, principalmente porque, como ferramenta de edição genômica, a sua capacidade de gerar sequências-alvo é enorme. O sistema é basicamente um mecanismo de defesa antigo e natural encontrado em diversas bactérias adaptado para editar genomas. A técnica consegue aliar simplicidade, alta eficiência e ampla aplicabilidade, no tratamento de doenças genéticas, congênitas e tumores. A técnica CRISPR foi adaptada com o intuito de induzir a dupla quebra do DNA em locais específicos, seguido da edição do genoma segmentado, permitindo a geração de diversos modelos transgênicos, expandindo a engenharia genética com a possibilidade de novos modelos de estudo, e mostrando-se eficiente na redução da agressividade das células cancerígenas em alguns tumores letais, como o carcinoma papilífero de tireoide. A era da edição do genoma levanta questões éticas que precisarão ser abordadas por cientistas e pela sociedade em geral. Por exemplo, quão podemos usar esta ferramenta poderosa de forma a garantir o máximo benefício ao mesmo tempo em que minimiza os riscos?

Palavras-chave: câncer papilífero da tireoide; sistemas CRISPR-Cas; ética

Abstract

CRISPR-Cas9 is one of the most studied systems of the last decade, mainly because as a genome editing tool, its ability to generate target sequences is enormous. The system is basically an ancient and natural defense mechanism found in many bacteria adapted to edit genomes. The technique is able to combine simplicity, high efficiency and wide applicability in the treatment of genetic and congenital diseases and tumors. The CRISPR technique was adapted with the aim of inducing the double breakage of DNA in specific locations, followed by the segmented genome editing, allowing the generation of several transgenic models, expanding genetic engineering with the possibility of new study models, proving to be efficient in decreasing the aggressiveness of cancer cells in some lethal tumors, such as papillary thyroid carcinoma. The era of genome editing raises ethical questions that will need to be addressed by scientists and society at large. How can we use this powerful tool to ensure maximum benefit while minimizing risk?

Keywords: cancer vaccines; thyroid diseases; ethics

Correspondência
Kely Braga Imamura
E-mail: kely.imamura@hotmail.com

Recebido em 23/02/2022 | Aprovado em 02/05/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200026

INTRODUÇÃO

Na década de 1980, cientistas observaram um padrão estranho em alguns genomas bacterianos, em que uma sequência de DNA poderia ser repetida diversas vezes, com sequências únicas entre as repetições. Eles chamaram essa configuração estranha de "agrupados de curtas repetições palindrômicas regularmente interespaçadas", ou CRISPR. Todavia, as possibilidades de utilização do sistema CRISPR só foram entendidas mais tarde, em 2012, quando Emmanuelle Charpentier[1] descobriu uma molécula chamada tracrRNA enquanto estudava a bactéria *Streptococcus pyogenes*, responsável por causar faringite. Estas sequências únicas entre as repetições combinavam com o DNA de vírus, especificamente de vírus de bactérias.[2] O locus do sistema CRISPR compreende curtas repetições diretas e separadas por sequências de DNA variáveis (fragmentos de DNA do organismo invasor), chamadas de "espaçadores", flanqueadas por diversos genes *cas*.

Ao entrarem na célula hospedeira, moléculas de DNA exógeno ativam o sistema de defesa bacteriano por meio da produção de enzimas (Cas1 e Cas2) que cortam o DNA estranho em pequenos fragmentos de aproximadamente 20 nucleotídeos.[2,3] Existem várias enzimas Cas, porém a mais utilizada é a Cas9 (nuclease), formando o sistema CRISPR-Cas tipo II, originalmente encontrado na bactéria *S. pyogenes*. A enzima Cas9 é responsável por cortar as duas fitas da dupla hélice do DNA, abrindo o espaço para a inserção de um novo trecho,[3] assim, o sistema CRISPR-Cas tem a finalidade de proteger a bactéria contra os elementos genéticos móveis,[4] sequências específicas de DNA exógeno[5,6] e, em alguns casos, RNA.[7]

A Norte-americana Jennifer Doudna já tinha estudado proteínas Cas9, porém sem resultados. O que faltava em sua pesquisa era a molécula tracrRNA que Emmanuelle descobrira para intermediar o CRISPR e a enzima Cas9. Charpentier e Doudna perceberam, então, que a "tesoura" criada em laboratório poderia cortar o DNA de qualquer espécie, além de poder escolher o trecho de DNA que se pretende cortar. Dessa forma, quando o alvo é identificado, a enzima Cas9 corta a dupla hélice em duas partes, impedindo a replicação de um vírus ou, no caso da técnica de edição, alterando a sequência de um genoma.[8]

Para tanto, o sistema CRISPR, que utiliza, além da nuclease Cas9, o gRNA (RNA guia, fusão de crRNA e tracrRNA), contendo 20 nucleotídeos na extremidade 5' e uma sequência PAM de identificação para a Cas9 clivar,[6] foi adaptado com o intuito de induzir a dupla quebra do DNA em locais específicos, seguido da edição do genoma segmentado, permitindo a geração de diversos modelos transgênicos e expandindo a engenharia genética com a possibilidade de novos modelos de estudo.[9] É possível utilizar a técnica CRISPR-Cas9 no melhoramento genético de plantas com o intuito de se promover resistência às pragas, bem como aos períodos secos. A ideia é permear a técnica e utilizá-la em terapias para o câncer e doenças hereditárias. O mais interessante do sistema é a possibilidade de substituir trechos de DNA por outros, remover partes do genoma que contém genes predispostos a alguma doença, substituindo esta parte por trechos genéticos onde não há essas mutações.[10]

O câncer de tireoide é um dos tumores mais comuns que afetam a região do pescoço e cabeça. Na maioria dos casos, o tratamento costuma ser simples e ter alta taxa de remissão com a radioterapia, no entanto as variantes agressivas desse câncer são mais difíceis de tratar e nem sempre respondem bem ao tratamento. Dessa forma, a possibilidade de utilizar a técnica CRISPR-Cas9 no tratamento de tumores traz uma nova perspectiva para a área.[11] No meio de todo esse dilema estilo "ovo ou galinha", o que se questiona é continuar as pesquisas para entender os riscos e determinar um limite, ou determinar um limite para continuar as pesquisas sem riscos.[12] Alinhar os preceitos éticos é um dever com a humanidade, ao passo que avançar nas pesquisas de cura ao câncer é uma possibilidade real ao utilizar o sistema CRISPR-Cas9. Dessa forma, o objetivo deste estudo é identificar os benefícios da técnica CRISPR-Cas9 no tratamento de câncer, especificamente de carcinoma papilífero de tireoide, expondo os limites éticos nas modificações da espécie humana.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo e analítico utilizando uma base de dados secundária. Foram realizadas pesquisas nos bancos de dados SciELO e PubMed, utilizando os descritores, em português/inglês, "CRISPR", "CRISPR-Cas9", "carcinoma papilífero de tireoide/CRISPR-Cas9", no período de 01/01/2015 – 31/12/21. Foram incluídos no estudo os artigos que utilizam o sistema CRISPR-Cas9 no tratamento de câncer, especificamente de carcinoma papilífero de tireoide, e discussões sobre os limites éticos nas modificações da espécie humana. Foram excluídos os relatos de caso e pesquisas experimentais.

REVISÃO DA LITERATURA

Histórico do CRISPR-Cas9

O pesquisador Yoshizumi Ishino e sua equipe da Universidade de Osaka (Japão) identificaram uma região peculiar

no genoma da bactéria *Escherichia coli*, constituído por uma configuração incomum: sequências repetidas e sequências espaçadoras intercaladas de função desconhecida. Tais sequências foram investigadas independentemente em 1993, e em 2000 elas foram identificadas nos genomas de diferentes bactérias. Porém, ainda segundo Jansen,[13] somente em 2002 a sigla CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* ou Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas) foi criada para denominar estas sequências. Bactérias e vírus sempre travaram uma batalha ao longo da evolução das espécies. Alguns bacteriófagos são capazes de lisar as células bacterianas, todavia algumas bactérias possuem um mecanismo de defesa capaz de proteger o seu material genético da invasão dos vírus, criando uma verificação de "memória",[14] utilizada na próxima vez que a célula for invadida pelo vírus.

Em 2012, Emmanuelle Charpentier[1] notou, ao descrever a bactéria *S. pyogenes*, que era muito simples cortar e alterar uma região precisa no genoma de escolha, onde os componentes pudessem ser controlados. Em conjunto com a pesquisadora Jennifer Doudna, Charpentier encontrou moléculas de RNA remanescentes do material genético viral, revelando que acopladas às formas mais longas do CRISPR estavam as nucleases Cas9. Esta descoberta da edição genômica por CRISPR-Cas9 concedeu o prêmio Nobel para as pesquisadoras. CRISPR[15] e a proteína Cas9 formam uma "tesoura" capaz de reconhecer e cortar uma porção específica do DNA viral, nesse sentido, é possível direcionar a "tesoura" para um ponto desejado do genoma, permitindo a inativação e modificação dos genes, inserindo alterações desejadas e específicas guiadas pelo RNA guia.[16]

Função biológica do CRISPR-Cas9

O sistema CRISPR-Cas tem a finalidade de proteger a bactéria contra os elementos genéticos móveis, sequências específicas de DNA exógeno e, em alguns casos, RNA.[4,5,7] É basicamente um sistema de defesa bacteriano.

De acordo com Lessa,[17] a região CRISPR é uma parte do material genético das bactérias que possui repetições "intercaladas" por pequenos pedaços de DNA de vírus que as infectaram no passado e, dessa forma, quando um vírus, com uma sequência de DNA existente nessa região invade a célula bacteriana, o mecanismo de defesa da bactéria envia a Cas9, uma nuclease, capaz de cortar a dupla fita do DNA viral na região em que há essa compatibilidade, ativando o sistema de "memória genética".

Todavia, para que a Cas9 consiga identificar essa parte do material genético do vírus, a célula codifica um RNA guia a partir da sequência do DNA viral contido na região CRISPR.

De acordo com Arend, Pereira e Markoski,[18] o sistema CRISPR-Cas9 pode ser utilizado para reparar mutações na região, como por exemplo para introduzir novas mutações, por meio do nocaute gênico, editando o genoma. A técnica é capaz de auxiliar também nos rearranjos cromossômicos, na regulação da expressão gênica, na busca de novos alvos para proteínas de ligação relacionadas com o reparo do DNA.[19]

Etapas do CRISPR-Cas9

Foram descritos três tipos distintos de sistema CRISPR-Cas, os tipos I, II e III, e onze subtipos. Nove proteínas Cas fazem parte do sistema: Cas1 e Cas2 estão presentes nos três tipos; Cas5, Cas6 e Cas7 nos tipos I e III. As proteínas exclusivas de cada sistema são Cas3 e Cas8 no tipo I, Cas9 no tipo II e Cas10 no tipo III.[20] O tipo II é o sistema mais simples de todos, e conta com a endonucleasse Cas9, guiada pelo crRNA. Durante uma infecção, o complexo formado pela Cas9 cliva o genoma viral, baseando-se no domínio PAM. A enzima Cas9 comporta dois domínios com atividades nucleásicas (RuvC e HNH), que participam da imunidade. O sistema CRISPR-Cas tipo III é o mais complexo, subdivididos em dois subtipos, III-A e III-B, que estão associados à proteína Cas10, podendo ser diferenciados pelos genes acessórios *csm* no subtipo III-A e *cmr* no III-B, requerendo domínios PAM para o reconhecimento da sequência alvo ou para a clivagem. O tipo III reconhece e cliva o RNA ou o DNA com material genético exógeno. O tipo III-A degrada o DNA invasor e o tipo III-B degrada apenas o RNA invasor.[10]

É importante ressaltar que a sequência PAM está presente apenas na sequência do alvo, ou seja, o CRISPR loci não contém a sequência PAM e dessa forma este não será cortado pela Cas9, apenas o DNA alvo conterá a sequência PAM e, portanto, somente ele será clivado pela Cas9.[21] O processo de "imunidade" de CRISPR-Cas envolve três mecanismos diferentes: (i) adaptação, (ii) expressão (biogênese do crRNA) e as (iii) interferências (ação contra o invasor).[22,23,24]

O estágio de adaptação envolve a incorporação de fragmentos de DNA exógenos, conhecidos como PAM (*protospacers adjacent motif* – motivo adjacente ao protoespaçador) de vírus e plasmídeos que invadiram a célula, sendo incorporados dentro do arranjo CRISPR (na sequência líder) como novos espaços, utilizando as proteínas Cas1 e Cas2, presentes no genoma que possui o sistema CRISPR. Estes espaços geram sequências de memória para uma defesa

específica contra subsequentes invasões pelo mesmo vírus ou plasmídeo.

Todavia, após o corte, o DNA tenta se regenerar, sofrendo alterações em sua sequência e, assim, o gene pode ser "desativado" no processo.[12]

Durante o estágio de expressão, o arranjo CRISPR é transcrito, pela RNA polimerase, como um precursor transcricional (pre-crRNA), processado e amadurecido para produzir CRISPR RNAs (crRNAs). Nesta fase, ocorre a transcrição ininterrupta do locus CRISPR, mediada pela sequência líder, que é uma região que possui muitas adeninas-timinas servindo como região promotora.[25]

Já na etapa de interferência, crRNAs auxiliados por proteínas Cas formam complexos que funcionam como guias para alvos específicos, reconhecendo e clivando o ácido nucleico do respectivo vírus ou plasmídeo.[24,26]

Basicamente, cada crRNA formará um complexo com um segundo RNA chamado de RNA-trans-ativação crRNA (tracrRNA), uma região conservada da bactéria. A fusão destes dois RNAs (crRNA e tracrRNA) formará o RNA guia (gRNA). O gRNA possui uma sequência contendo cerca de 20 pb (utilizada para a ligação no DNA alvo).[27,21]

Para a Cas9 se ligar com sucesso ao DNA, a sequência-alvo no DNA genômico precisa ser complementar à sequência do gRNA e deve ser seguida pela sequência correta PAM.

CRISPR-Cas9 no tratamento gênico de câncer

O sistema CRISPR-Cas9 apresenta um grande potencial para ser usado como sistema no tratamento de várias doenças de causa genética, incluindo o câncer, as doenças monogênicas, e as doenças infecciosas, como a hepatite B e o HIV.[28]

O sistema na edição, bem como na remoção de mutações específicas nos oncogenes ou proto-oncogenes, responsáveis pela multiplicação descontrolada na célula, que resulta nos tumores, tem sido aplicado. Esta ferramenta pode ser aplicada em humanos, cujas células são coletadas, modificadas em laboratório e reintroduzidas.

Basicamente, a técnica funciona da seguinte forma: LNPs (nanopartículas lipídicas) visam especificamente as células cancerosas e as destroem por meio da manipulação genética.

O sistema CRISPR-LNPs carrega um RNA mensageiro que codifica para a enzima CRISPR-Cas9, atuando como uma tesoura molecular, cortando o DNA das células. Vale ressaltar que o método CRISPR-Cas9 também pode ser utilizado no combate a cânceres metastáticos, por meio da utilização de nanopartículas lipídicas, o que pode ser um passo importante na direção da cura desta doença agressiva.[29]

CRISPR-Cas9 no tratamento de carcinoma papilífero de tireoide

A tireoide é uma glândula do sistema endócrino responsável pela produção de hormônios que agem no controle de diversos órgãos do corpo humano.

O indivíduo apresenta a condição clínica chamada de bócio quando a glândula apresenta um crescimento anormal, causando desequilíbrio em alguns hormônios.

O carcinoma medular de tireoide (CMT) é uma neoplasia das células C ou parafoliculares da tireoide, correspondendo a 5% a 8% dos tumores malignos da glândula. O CMT apresenta-se como um tumor esporádico ou hereditário. Quando hereditário, é um dos componentes de uma síndrome genética de herança autossômica dominante, apresentando-se isoladamente na forma de carcinoma medular de tireoide familiar ou como um dos componentes das síndromes de neoplasia endócrina múltipla. O proto-oncogene RET é o responsável pela forma hereditária da neoplasia. Testes moleculares disponíveis formam a base para o manejo adequado da hereditariedade do tumor, pois o diagnóstico e, consequentemente, o tratamento precoce melhoram significativamente o prognóstico no indivíduo afetado e nos carreadores assintomáticos.[30]

O CMT apesenta como principais sintomas, além do aumento progressivo do nódulo no pescoço, a rouquidão, a sensação de falta de ar e a dificuldade em engolir alimentos. Os fatores de risco para tais anomalias envolvem histórico de irradiação, como a radioterapia de cabeça e pescoço, histórico familiar e associação com dietas pobres em iodo.[31] Segundo o INCA (2021),[32] o câncer de tireoide é um dos tumores mais comuns que afetam as regiões de pescoço e cabeça.

Na maioria dos casos, o tratamento costuma ser simples, envolvendo procedimentos cirúrgicos como a retirada total ou parcial da tireoide. Nas formas mais agressivas há complementação terapêutica com iodo radioativo, porém as variantes agressivas desse câncer são mais difíceis de tratar e podem não responder bem ao tratamento. Isso ocorre, em parte, porque um microRNA, que são pequenos RNAs endógenos que regulam a expressão gênica pós-transcricional do miR-17–92, tem sua expressão aumentada em tumores desenvolvidos nas glândulas.

Dessa forma, o objetivo de melhorar o tratamento do câncer consiste em inibir a expressão do miR-17-92. A edição do miR-17-92 é um desafio, pois o microRNA é um *cluster* (genes não codificantes) composto por seis microRNAs diferentes, entretanto é possível fazer a edição gênica desse microRNA utilizando a técnica CRISPR-Cas9, alterando a sequência de

nucleotídeos do gene. Alguns pesquisadores já testaram a técnica em células do carcinoma de tireoide.[11,31]

Existem algumas formas de utilizar a técnica CRISPR-Cas9 no combate ao câncer de tireoide. A edição gênica pode ser usada como neoadjuvante no tratamento já existente de cânceres agressivos, como a terapia de inibidores farmacológicos. Pesquisadores estudaram a capacidade de algumas células diferenciadas em expressar genes relacionados ao metabolismo do iodo, uma vez que o principal tratamento para o câncer de tireoide é o iodo radioativo. Alguns genes como o *TPO* e o *NIS*, responsáveis pela captação de iodo, aumentaram a sua diferenciação, mas não o suficiente para que a capacidade de iodo fosse regenerada,[11] porém com a utilização da técnica CRISPR-Cas9 seria possível regenerar essa capacidade.

Nos carcinomas de tireoide, há também a mutação no gene *BRAF*, comum em 40% desses carcinomas. Essa mutação possui efeitos sobre a expressão de miR-17-92, que é um potente regulador da diferenciação de células foliculares da tireoide. A utilização de inibidores combinados com a edição de microRNA, por meio do sistema CRISPR-Cas9, seria responsável por bloquear a expressão do miR-17–92, melhorando a diferenciação dos genes da tireoide e diminuindo a expressão do gene *NIS* no câncer agressivo da tireoide.[33]

CRISPR e limites éticos

Se no passado, para saber a respeito do futuro, os indivíduos consultavam os astros, na atualidade, a consulta aos genes tem sido a aposta para prever o futuro, na esperança de decifrar totalmente o ser humano. Nesse sentido, a humanidade começa a ter em suas mãos ferramentas e conhecimentos no âmbito da genética e da aplicação da engenharia genética que prometem revolucionar completamente a sua vida, bem como a fauna e a flora das regiões.

Neste sentido, é necessário ter limites e conhecimentos éticos para não condenar precocemente uma descoberta científica que pode trazer muitos benefícios à humanidade, embora tal descoberta não esteja isenta de comprometer a vida do ser humano no futuro,[34] visto que a habilidade de modificar pontos no genoma humano é objetivo da medicina desde o conhecimento do DNA como unidade básica da hereditariedade.

Uma das dificuldades do sistema CRISPR-Cas9 é a utilização de vetores virais como veículo, pois esses vetores possuem a capacidade de infectar várias células, todavia a técnica já utiliza como alternativas os plasmídeos e alguns métodos físicos, como a eletroporação, diminuindo as variáveis do sistema.[35] A era da edição do genoma levanta questões éticas que precisarão ser abordadas por cientistas e pela sociedade em geral.

O quanto podemos usar esta ferramenta poderosa de forma a garantir o máximo benefício ao mesmo tempo em que minimiza os riscos? Será importante que entendamos os fundamentos desta tecnologia para facilitar o discurso público racional. Os laboratórios também precisarão considerar a melhor forma de promover o uso responsável da tecnologia CRISPR-Cas9 sem inibir a pesquisa apropriada e o desenvolvimento da técnica.[15]

CONCLUSÃO

No final do século XX, intensificaram-se as discussões em torno de questões éticas sobre a manipulação genética em humanos. Esta discussão permanece no século XXI, essencialmente após a descoberta do sistema CRISPR-Cas9, uma técnica de edição do DNA que pretende facilitar a engenharia genética. Essa técnica pode ser utilizada no tratamento das doenças genéticas e diversos tumores, como o câncer de tireoide. No entanto, um dos maiores desafios científicos é desenvolver metodologias para que a técnica de CRISPR-Cas9 não modifique o genoma humano em locais não intencionais e não programados, o que traria consequências imprevisíveis para os pacientes, seus descendentes e, em um aspecto mais amplo, para toda a espécie humana e seu ecossistema.

REFERÊNCIAS

1. Charpentier's E. Experiment About the CRISPR/Cas 9 System's Role in Adaptive Bacterial Immunity (2012)". Embryo Project Encyclopedia (2017-10-19). ISSN: 1940-5030.
2. Burmistrz M, Pyrc K. CRISPR-Cas systems in prokaryotes. Polish J. Microbiol, Warsaw, 2015; (64):193-202.
3. Bondy-Denomy J, et al. Prophages mediate defense against phage infection through diverse mechanisms. ISME J, Wageningen, 2016; 10(12):2854-2866.
4. Makarova KS, et al. An updated evolutionary classification of CRISPR-Cas systems. Nat Rev Microbiol, Londres, 2015; (13):722-736.
5. Hatoum-Aslan A, Marraffini LA. Impact of CRISPR immunity on the emergence and virulence of bacterial pathogens. Curr Opin Microbiol, Filadélfia, 2014; (17):82-90.
6. Barrangou R. The roles of CRISPR-Cas systems in adaptive immunity and beyond. Curr Opin in Immunol, Filadélfia, 2015; (32):36-41.
7. Barrangou R. et al. CRISPR Provides Acquired Resistance Against Viruses in Prokaryotes. Science, Washington, 2007; 315(5819):1709-1712.
8. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier EA. Programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. Science, 2012; 337(6096):816-21.
9. Hsu PD, Lander ES, Zhang F. Development and Applications of CRISPR Cas9 for Genome Engineering. Cell, 2014; 157(6):1262-78.

10. Leenay RT, Beisel CL. Deciphering, Communicating, and Engineering the CRISPR PAM. J. Mol Biol, Londres, 2017; (429):177-191.
11. Fuziwara CS, Kimura ET. Insights into Regulation of the miR-17-92 Cluster of miRNAs in Cancer. Front Med (Lausanne). 2015; sep. (8):2-64.
12. Alcântara RL, et al. A tecnologia de CRISPR-Cas9 na terapia gênica do câncer de pulmão. RBMC, 2019 dez. (5) n.13.
13. Jansen R, et al. Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. Mol. Microbiol, Oxford, 2002, (43):1565-1575.
14. Gleditzsch D, et al. PAM identification by CRISPR-Cas effector complexes: diversified mechanisms and structures. RNA Biol, Oxford, 2019; 16(4):504-517.
15. Doudna JA, Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. SCIENCE, 2014; Nov. (346):6213.
16. Nicholson SA, Pepper MS. CRISPR-Cas: Revolutionising genome engineering. South African Medical Research, Cape Town, 2016; set abr. (9):106.
17. Lessa MJ. CRISPR-Cas9. Divulgação Científica: para entender melhor o mundo. Creditação da extensão no Instituto de Microbiologia, UFRJ, 2021. Disponível em: <https://www.microbiologia.ufrj.br/portal/index.php/pt/graduacao/informe-da-graduacao/995-crispr-cas9> Acesso em 16/01/2022.
18. Arend MC, Pereira JO, Markoski MM. O Sistema CRISPR/Cas9 e a possibilidade de edição genômica para a cardiologia. Arquivo Brasileiro de Cardiologia, São Paulo, 2017; 108(1):81-83.
19. Machado HC. Análise in silico de sequências de DNA de regiões genômicas associadas ao sistema CRISPR. [Dissertação de Mestrado] UFPR, 2019. 80p.
20. Biswas A, et al. CRISPR Target - Bioinformatic prediction and analysis of crRNA targets. RNA Biol, Oxford, 2013; 10(5):817827.
21. Sander JD, Joung KK. CRISPR Cas9 systems for editing, regulating and targeting genomes. Nature Biotechonology, 2014; 32(4):347-55.
22. Deveau H, Garneau JE, Moineau S. CRISPR/Cas system and its role in phage-bacteria interactions. Annu Rev Microbiol. 2010 (64):475-493.
23. Westra ER, Swarts DC, Staals RH, Jore MM, Brouns SJ, Van Der Oost J. The CRISPRs, they are a-changin´s: how prokaryotes generate adaptative immunity. Annu Rev Genet, 2012; (46):311-339.
24. Barrangou R. CRISPR–Cas systems and RNA-guided interference. Wiley Interdiscip Rev RNA. 2013; (4):267-278.
25. Jackson SA, et al CRISPR-Cas: Adapting to change. Science, Washington, 2017; (356):6333.
26. Fineran PC, Ron LD. Gene regulation by engineered CRISPR-Cas systems. Current Opinion in Microbiology, 2014; (18):83-89.
27. Hsu PD, Lander ES, Zhang F. Development and Applications of CRISPR-Cas9 for Genome Engineering. Cell, 2014; 157(6):1262-78.
28. Mendelics A. CRISPR/CAS9: Edição do DNA e o tratamento de doenças. Nov, 2021. Disponível em: <https://blog.mendelics.com.br/crispr-cas9-edicao-do-dna-e-o-tratamento-de-doencas/> Acesso em 16/01/2022.
29. Reis EVB, Oliveira BT. CRISPR-CAS9, Biossegurança e bioética: uma análise jusfilosófica-ambiental da engenharia genética. Veredas do direito, 2019; jan/abr.16(34):123-152.
30. Puñales MK, et al. Carcinoma medular de tireoide: aspectos moleculares, clínico-oncológicos e terapêuticos. Arq Bras Endocrinol Metab, 2004; fev.(1):48.
31. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. CA Cancer J Clin.; 2013; 63(1):11- 30.
32. Inca, Instituto Nacional de Câncer. MS. Disponível em <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-tireoide> Acesso em 15/01/2022.
33. Takakura S, Mitsutake N, Nakashima M, Namba H, Saenko VA, Rogounovitch TI, Nakazawa Y, HayashI T, Ohtsuru A, Yamashita S. Oncogenic role of miR-17-92 cluster in anaplastic thyroid cancer cells. Cancer Sci; 2008; 99(6):147-154.
34. Sganzerla A, Pessini L. Edição de humanos por meio da técnica do Crispr cas9: entusiasmo científico e inquietações éticas. Saúde debate; 2020. Abr-Jun. 44(125):527-540.
35. Karimi Z, et al. Bacterial CRISPR Regions: General Features and their Potential for Epidemiological Molecular Typing Studies. Open Microbiol. J., Hilversum, 2018; (12):59-70.

Interferência *in vivo* e *in vitro* de medicamentos na avaliação da glicemia: uma revisão da literatura

In vivo *and* in vitro *interference of medications in the evaluation of glycemia: a review of the literature*

Palloma Aline 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, Campus Centro Oeste. Divinópolis, MG, Brasil.

Resumo

O *diabetes mellitus* é uma das doenças crônicas não transmissíveis de maior incidência mundial, sendo fundamentais a realização de exames laboratoriais para o diagnóstico e o monitoramento do controle glicêmico. Contudo, alguns medicamentos podem interferir nos resultados destes testes laboratoriais. Esta revisão da literatura teve como objetivo descrever os principais fármacos que apresentam o potencial de causar interferência *in vivo* ou *in vitro* na avaliação laboratorial da glicemia, além de relatar os principais mecanismos responsáveis pela interferência. Palavras-chaves como "interferência medicamentosa", "interferências *in vivo*", "interferências *in vitro*", "glicemia" e "hiperglicemia" foram empregadas para a busca dos artigos no SciELO, PubMed e Google Acadêmico. Vários medicamentos podem apresentar como reação adversa o aumento da glicemia, sendo importante o monitoramento periódico da glicemia dos pacientes que os utilizam devido ao risco de desenvolvimento de *diabetes mellitus*. Por outro lado, alguns medicamentos podem reduzir a glicemia, especialmente em pacientes que utilizam hipoglicemiantes. Portanto, é muito importante o conhecimento dos medicamentos que podem alterar a glicemia para que seja feito o ajuste da dose do hipoglicemiante nos pacientes com *diabetes mellitus*. Alguns medicamentos ainda podem interferir *in vitro* na dosagem laboratorial, sendo fundamental o conhecimento destas interferências pelos profissionais da área da saúde.

Palavras-chave: *Diabetes mellitus*; efeitos colaterais e reações adversas relacionados a medicamentos; glicemia; técnicas de laboratório clínico.

Abstract

Diabetes mellitus is one of the most prevalent chronic not transmissible diseases worldwide, and laboratory tests are essential for the diagnosis and monitoring of glycemic control. However, some medicines can interfere with the results of these laboratory tests. This literature review aimed to describe the main drugs that have the potential to cause interference in vivo or in vitro in the laboratory evaluation of blood glucose, in addition to reporting the main mechanisms responsible for the interference. Keywords like "drug interference", "in vivo interference", "in vitro interference", "glycemia" and "hyperglycemia" were used to search for articles in Scielo, Pubmed and Google Scholar. Several drugs can increase glycemia as an adverse reaction, and it is important to periodically monitor the blood glucose of patients who use them due to the risk of developing diabetes mellitus. On the other hand, some drugs can reduce glycemia, especially in patients using hypoglycemic drugs. Therefore, it is very important to know the drugs that can alter glycemia in order to adjust the dose of the hypoglycemic agent in patients with diabetes mellitus. Some drugs can still interfere in vitro with the laboratory measurement, and it is essential the knowledge of these interferences by health professionals.

Keywords: Blood glucose; clinical laboratory techniques; diabetes mellitus; drug-related side effects and adverse reactions.

Correspondência
Caroline Pereira Domingueti
E-mail: caroldomingueti@ufsj.edu.br

Recebido em 15/04/2022 | Aprovado em 15/06/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200039

INTRODUÇÃO

Dentre as doenças crônicas não transmissíveis, o *diabetes mellitus* (DM) se destaca no âmbito da saúde, com estimativas de que 537 milhões de adultos com idade entre 20 e 79 anos convivam com a doença no mundo, o que representa 10,5% da população mundial nesta faixa etária.[1] Sendo assim, testes laboratoriais são cada vez mais solicitados a fim de monitorar a glicemia dos pacientes portadores da doença ou diagnosticar indivíduos com risco de desenvolvê-la. A avaliação dos níveis plasmáticos de glicose é amplamente empregada para a realização do diagnóstico e monitoramento do DM.[2]

Contudo, alguns medicamentos podem interferir em determinados ensaios laboratoriais de determinação da glicemia, sendo importante reconhecer quais são aqueles que apresentam esta interferência *in vitro*.[3] Além disso, o aumento da glicemia consiste em uma reação adversa observada em decorrência da utilização de diversos medicamentos. Diante desta possível interferência *in vivo*, indivíduos que utilizam estes medicamentos cronicamente devem realizar o monitoramento periódico da glicemia.[2-4]

Grande parte da população portadora de DM ainda apresenta comorbidades associadas e, portanto, utiliza outras classes de medicamentos além dos hipoglicemiantes, os quais podem interferir nos níveis glicêmicos e, consequentemente, no controle da glicemia destes pacientes.[5] Portanto, é imprescindível conhecer quais medicamentos apresentam esta interferência *in vivo*, podendo aumentar ou diminuir os níveis glicêmicos, para a realização de ajustes da dose do hipoglicemiante e/ou evitar o uso de tais medicamentos por pacientes portadores de DM.[3,6]

Diante disto, este trabalho teve como objetivo descrever os principais fármacos que apresentam o potencial de causar interferência *in vivo* ou *in vitro* na avaliação laboratorial da glicemia, além de relatar os principais mecanismos responsáveis pela interferência.

METODOLOGIA

Esta revisão da literatura foi realizada por meio da busca de publicações científicas sobre a interferência *in vivo* e *in vitro* de medicamentos em exames laboratoriais de avaliação da glicemia. As palavras-chave "interferência medicamentosa", "interferências *in vivo*", "interferências *in vitro*", "glicemia" e "hiperglicemia", dentre outras, foram empregadas para a busca das publicações científicas nos bancos de dados SciELO, PubMed e Google Acadêmico.

MEDICAMENTOS QUE INTERFEREM NA AVALIAÇÃO LABORATORIAL DA GLICEMIA

A Tabela 1 apresenta os principais medicamentos que podem interferir nos exames laboratoriais de avaliação da glicemia e os mecanismos *in vivo* ou *in vitro* responsáveis pela interferência. A Tabela 2 apresenta os principais fármacos que podem interferir *in vitro* na dosagem laboratorial da glicemia e o mecanismo responsável pela interferência.

Antipsicóticos

Os antipsicóticos, como clorpromazina, haloperidol, clozapina, olanzapina, quetiapina, risperidona, aripiprazol, amissulprida, são utilizados no tratamento da esquizofrenia e estes fármacos podem provocar como reação adversa o desenvolvimento de obesidade e de *diabetes mellitus* tipo 2. A obesidade por si só pode predispor ao desenvolvimento de *diabetes mellitus* tipo 2 em indivíduos suscetíveis. Contudo, como a hiperglicemia tende a melhorar após a interrupção do uso dos antipsicóticos e pode surgir em indivíduos que não apresentam ganho de peso, isto indica que outros mecanismos também possam ser responsáveis pelo aumento da glicemia. Há relatos de que estes fármacos podem causar um aumento da resistência à insulina que já está presente em pacientes com esquizofrenia, resultando em aumento dos níveis séricos de insulina. Além disso, eles podem inibir a captação de glicose pelo tecido muscular.[7]

Anti-inflamatórios esteroidais

Os glicocorticoides, como prednisona, prednisolona, dexametasona, beclometasona e hidrocortisona, são utilizados na prática clínica como anti-inflamatórios e imunossupressores. Estes medicamentos são os mais frequentemente associados com o desenvolvimento de hiperglicemia e *diabetes mellitus*. O uso crônico dos glicocorticoides altera a composição corporal, resultando em acúmulo de gordura na região abdominal, o que leva ao desenvolvimento da resistência à insulina nos tecidos periféricos, a qual é caracterizada pela redução da captação de glicose principalmente no músculo esquelético e no tecido adiposo. Estes fármacos ainda provocam disfunção das células beta, resultando em diminuição da produção e secreção de insulina. Além disso, eles ativam vários genes envolvidos no metabolismo hepático da glicose, acarretando o aumento da gliconeogênese e da glicogenólise.[8]

Tabela 1

Principais fármacos que podem interferir *in vivo* na avaliação laboratorial da glicemia e o mecanismo responsável pela interferência

Resposta	Classe Terapêutica/Fármaco	Mecanismo
Diminuição da glicemia	Anti-inflamatórios não esteroidais (Ácido acetilsalicílico, Ibuprofeno) Anti-hipertensivos inibidores da enzima conversora de angiotensina (Benazepril, Captopril, Cilazapril, Delapril, Enalapril, Fosinopril, Lisinopril, Perindopril, Quinapril, Ramipril, Trandolapril) Anti-hipertensivos bloqueadores dos receptores de angiotensina (Candesartana, Eprosartana, Ibersatana, Losartana, Telmisartan, Valsartana) Fluoroquinolonas (Ciprofloxacino, Delafloxacino, Gatifloxacino, Gemifloxacino, Levofloxacino, Moxifloxacino, Norfloxacino, Ofloxacino) Antimicrobiano (Sulfametoxazol-Trimetoprim) Estabilizador de humor (Lítio)	Aumento da secreção de insulina
	Anti-hipertensivos inibidores da enzima conversora de angiotensina (Benazepril, Captopril, Cilazapril, Delapril, Enalapril, Fosinopril, Lisinopril, Perindopril, Quinapril, Ramipril, Trandolapril) Anti-hipertensivos bloqueadores dos receptores de angiotensina (Candesartana, Eprosartana, Ibersatana, Losartana, Telmisartan, Valsartana) Anti-hipertensivos bloqueadores dos canais de cálcio (Anlodipino, Diltiazem, Felopidina, Nicardipina, Nifedina, Verapamil) Estabilizador de humor (Lítio) Tratamento da hiperuricemia (Alopurinol)	Aumento da sensibilidade à insulina
Aumento da glicemia	Hormônio (Levotiroxina)	Aumento da absorção intestinal de glicose
	Anti-inflamatórios esteroidais (Beclometasona, Dexametasona, Hidrocortisona, Prednisolona, Prednisona) Anti-hipertensivo (Clonidina, Diazóxido) Hormônio (Levotiroxina) Antiepiléptico (Carbamazepina) Broncodilatadores agonistas beta-adrenérgicos (Fenoterol, Formoterol, Metaproterenol, Salbutamol, Salmeterol, Terbutalina) Hormônio (hormônio do crescimento)	Aumento da glicogenólise e da gliconeogênese
	Anti-inflamatórios esteroidais (Beclometasona, Dexametasona, Hidrocortisona, Prednisolona, Prednisona) Diuréticos de alça (Bumetamida, Furosemida) Diuréticos tiazídicos (Clortalidona, Hidroclorotiazida, Indapamida) Hormônio (Progesterona) Antiepilépticos (Carbamazepina, Fenitoína) Antimicrobiano (Isoniazida) Antidepressivos tricíclicos (Amitriptilina, Clomipramina, Desipramina, Imipramina e Nortriptilina) Antidepressivos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (Citalopram, Escitalopram, Fluoxetina, Fluvoxamina, Paroxetina, Sertralina) Imunossupressores (Ciclosporina, Tacrolimus) Opioide (Meperidina) Antiprotozoário (Pentamidina) Estatinas (Atorvastatina, Lovastatina, Sinvastatina, Pravastatina, Rosuvastatina) Antiviral (Interferon alfa)	Redução da secreção de insulina
	Antipsicóticos (Amissulprida, Aripiprazol, Clorpromazina, Clozapina, Haloperidol, Olanzapina, Quetiapina, Risperidona) Anti-inflamatórios esteroidais (Beclometasona, Dexametasona, Hidrocortisona, Prednisolona, Prednisona) Anti-hipertensivos betabloqueadores (Atenolol, Metoprolol, Propranolol) Diuréticos de alça (Bumetamida, Furosemida) Diuréticos tiazídicos (Clortalidona, Hidroclorotiazida, Indapamida) Anti-hipertensivo (Diazóxido) Hormônio (Progesterona) Antimicrobiano (Isoniazida) Antidepressivos tricíclicos (Amitriptilina, Clomipramina, Desipramina, Imipramina e Nortriptilina) Antidepressivos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (Citalopram, Escitalopram, Fluoxetina, Fluvoxamina, Paroxetina, Sertralina) Hipolipemiante (Niacina) Estatinas (Atorvastatina, Lovastatina, Sinvastatina, Pravastatina, Rosuvastatina) Tratamento do tabagismo (Nicotina) Antivirais inibidores de protease (Atazanavir, Lipinavir, Ritonavir, Saquivavir) Hormônio (hormônio do crescimento)	Resistência à insulina

Tabela 2

Principais fármacos que podem interferir *in vitro* na dosagem laboratorial da glicemia e o mecanismo responsável pela interferência

Resposta	Fármaco	Mecanismo
Diminuição da glicemia	Ácido ascórbico	Interfere nos métodos glicose oxidase e sulfato cúprico
	Metronidazol	Interfere no método hexoquinase
	Paracetamol	Interfere no método glicose oxidase de glicosímetros
Aumento da glicemia	Tetraciclina	Interfere nos métodos ortotoluidina e hexoquinase

Anti-inflamatórios não esteroidais

O ácido acetilsalicílico apresenta efeitos analgésico, antipirético, anti-inflamatório e antiagregante plaquetário. Em doses elevadas, associa-se à hemoglobina e dá origem à hemoglobina acetilada, podendo alterar os resultados da determinação da HbA1c.[1] Além disso, os salicilatos podem inibir a síntese de prostaglandinas nas células beta pancreáticas, o que pode estar relacionado com o aumento da secreção de insulina e desenvolvimento de hipoglicemia.[9]

O ibuprofeno é utilizado como anti-inflamatório, antipirético e analgésico e pode causar hipoglicemia quando usado em associação com fármacos hipoglicemiantes.[10] Este fármaco inibe a secreção de prostaglandina E, o que resulta em aumento da secreção de insulina.[11]

O paracetamol apresenta ação analgésica e antipirética, sendo que sua atividade anti-inflamatória é baixa.[12] O medicamento interfere na interpretação de glicosímetros amperométricos ou fotométricos que empregam o método de glicose oxidase, diminuindo os valores glicêmicos.[13]

Anti-hipertensivos

Os betabloqueadores são anti-hipertensivos que atuam diminuindo o débito cardíaco. Estes fármacos podem causar intolerância à glicose e hiperglicemia, efeito este que pode ser aumentado quando utilizados em combinação com diuréticos de alça ou tiazídicos. Este efeito é mais pronunciado com os betabloqueadores de primeira e segunda geração, como propranolol, metoprolol e atenolol, do que com os de terceira geração, como carvedilol, bisoprolol e bucindolol. Os beta-bloqueadores de terceira geração, em geral, não alteram a glicemia devido ao efeito vasodilatador, o qual potencializa a captação de glicose pelos tecidos periféricos.[14]

Os diuréticos de alça, como furosemida, bumetamida, e os diuréticos tiazídicos, como hidroclorotiazida, clortalidona e indapamida, consistem na classe mais utilizada de anti-hipertensivos, devido à eficácia terapêutica associada ao baixo custo.[15] Contudo, eles apresentam como reação adversa algumas alterações metabólicas, como hiperglicemia e intolerância à glicose. O mecanismo pelo qual os diuréticos interferem na intolerância à glicose não está totalmente elucidado, mas pode relacionar-se ao comprometimento da liberação de insulina e alterações no metabolismo de carboidratos. Além disso, o uso dos diuréticos de alça e tiazídicos está associado com o desenvolvimento de hipocalemia, hipomagnesemia e hiponatremia. O potássio está associado à liberação de insulina e o magnésio regula a atuação do hormônio, captação da glicose estimulada pela insulina e tônus vascular. Portanto, a perda de magnésio prejudica a ação da tirosina quinase no receptor do hormônio, compromete a atividade da insulina no organismo e beneficia o desenvolvimento da intolerância à glicose.[16]

O diazóxido é empregado no tratamento da hipertensão arterial maligna. Este fármaco é capaz de reduzir a secreção de insulina e aumentar a secreção de adrenalina, resultando em hiperglicemia. Além disso, ele pode diretamente estimular a produção hepática de glicose e inibir a captação de glicose pelas células.[17] A hiperglicemia induzida pela clonidina, por sua vez, ocorre por meio do estímulo aos receptores alfa-2 adrenérgicos no sistema nervoso central e também por aumento da gliconeogênese hepática.[18]

Os inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA), como enalapril, captopril, lisinopril, benazepril, fosinopril, cilazapril, ramipril, quinapril, perindopril, trandolapril e delapril, e os bloqueadores dos receptores de angiotensina (BRA), como losartana, candesartana, eprosartana, ibersatana, telmisartan e valsartana, aumentam a sensibilidade à insulina, podendo contribuir para a melhora do controle glicêmico e até mesmo causar hipoglicemia em pacientes com *diabetes mellitus*.[19,20] Uma possível explicação para este efeito consiste no aumento do fluxo sanguíneo em decorrência da elevação dos níveis de cininas, o que resulta em maior liberação de insulina e em aumento da captação

de glicose pelas células.[21] Devido a este aumento da sensibilidade à insulina, estes medicamentos tendem a reduzir o risco de desenvolvimento de *diabetes mellitus* nos pacientes hipertensos não diabéticos que os utilizam.[22]

Os bloqueadores dos canais de cálcio, tais como nifedina, anlodipino, nicardipina, felopidina, verapamil e diltiazem, também podem aumentar a sensibilidade à insulina e reduzir a glicemia, contribuindo a melhora do controle glicêmico em pacientes diabéticos e ainda podem reduzir o risco de desenvolvimento de diabetes mellitus nos indivíduos que não apresentam a doença.[23,24]

Hormônios

Os medicamentos hormonais à base de progesterona, incluindo o uso prolongado de anticoncepcionais orais que apresentam altas dose de progestógenos, podem promover resistência à insulina e redução da secreção de insulina, resultando em aumento dos níveis séricos de glicose.[14, 25]

A levotiroxina repõe sinteticamente o hormônio tireoidiano tiroxina em pacientes que apresentam hipotireoidismo. Este fármaco estimula a absorção intestinal de glicose e promove um aumento da expressão de receptores de catecolaminas, resultando em aumento da glicogenólise. Além disso, a levotiroxina estimula a síntese hepática de glicose a partir do lactato e do glicerol, resultando em hiperglicemia.[26]

O hormônio do crescimento é empregado no tratamento de distúrbios associados com deficiência na sua produção. A administração deste hormônio pode diminuir a captação de glicose pelos músculos, causando resistência à insulina e estimular a gliconeogênese e a glicogenólise, resultando em hiperglicemia.[27]

Antiepiléticos

A carbamazepina é um medicamento bastante utilizado no tratamento da epilepsia, sendo relativamente frequente a superdosagem associada ao seu uso, a qual pode acarretar várias reações adversas, dentre as quais a hiperglicemia. O mecanismo responsável pela hiperglicemia consiste no aumento da gliconeogênese e redução da produção de insulina pelo pâncreas.[28]

A fenitoína é capaz de provocar hiperglicemia em indivíduos diabéticos e não diabéticos, por reduzir a secreção de insulina e causar intolerância à glicose.[29] Este fármaco ainda pode diminuir o efeito hipoglicemiante das sulfonilureias, comprometendo o controle glicêmico dos pacientes com *diabetes mellitus* que utilizam ambos os medicamentos.[30]

Antimicrobianos

O uso concomitante das fluoroquinolonas, tais como ciprofloxacino, levofloxacino, norfloxacino, ofloxacino, delafloxacino, moxifloxacino, gemifloxacino e gatifloxacino, com os hipoglicemiantes sulfonilureias pode causar hipoglicemia em pacientes com *diabetes mellitus*.[31] As fluoroquinolonas podem se ligar aos canais de potássio sensíveis à adenosina trifosfato (ATP), agindo de modo semelhante aos hipoglicemiantes secretagogos de insulina, estimulando diretamente a secreção de insulina pelo pâncreas.[32]

A isoniazida é utilizada no esquema terapêutico contra a tuberculose. A tuberculose pode deprimir a tolerância à glicose de forma temporária, sendo que a hiperglicemia ocorre devido à inflamação induzida no decorrer da doença. Este fármaco pode antagonizar o efeito das sulfonilureias, prejudicando o controle glicêmico de pacientes diabéticos, como também pode comprometer a secreção e ação da insulina, resultando em hiperglicemia em indivíduos não diabéticos.[33]

As tetraciclinas interferem *in vitro* nos exames laboratoriais de determinação de glicemia que empregam o método da ortotoluidina (em que uma amina aromática interage com o aldeído presente na molécula de glicose em meio ácido em alta temperatura, formando glicosilamina e base de Schiff) e o método da hexoquinase (em que a molécula de glicose é fosforilada através do ATP pela atuação da enzima formando glicose-6-fosfato, então este produto é convertido em 6-fosfogliconolactona pela ação da glicose-6-fosfato-desidrogenas e utilizando $NADP^+$ que se converterá em NADP).[34]

O sulfametoxazol-trimetoprim, por outro lado, pode causar hipoglicemia quando associado aos hipoglicemiantes utilizados no tratamento do *diabetes mellitus*. O mecanismo sugerido para este efeito se baseia no fato de que este fármaco pertence ao grupo das sulfonamidas, apresentando estrutura química semelhante às sulfonilureias, de modo que ele pode se ligar aos receptores das células beta pancreáticas e estimular a secreção de insulina.[35]

Antidepressivos

Os antidepressivos tricíclicos, como amitriptilina, clomipramina, desipramina, imipramina e nortriptilina, e os antidepressivos inibidores seletivos da recaptação de serotonina, como fluoxetina, citalopram, paroxetina, sertralina, fluvoxamina e escitalopram podem causar como reação adversa o aumento da glicemia e o desenvolvimento de *diabetes mellitus*. O aumento da liberação de serotonina pode estar relacionado com a alteração na regulação da glicemia e no aumento do risco para o desenvolvimento do

diabetes mellitus. Além disso, o uso dos antidepressivos tem sido associado com aumento dos níveis séricos de cortisol, o que pode acarretar resistência à insulina e hiperglicemia. Alguns antidepressivos ainda podem causar ganho de peso, o que está associado a um maior risco para desenvolvimento de *diabetes mellitus*. Estes fármacos apresentam também afinidade para os receptores de acetilcolina muscarínicos do tipo M_3, os quais desempenham um papel importante na regulação da secreção de insulina, podendo comprometer a secreção deste hormônio.[36]

Imunossupressores

A ciclosporina e o tacrolimus são medicamentos imunossupressores utilizados em pacientes que receberam transplantes de órgãos, para evitar a rejeição do órgão transplantado. Estes fármacos reduzem a expressão do gene que codifica a insulina no pâncreas, resultando em diminuição da produção e secreção de insulina, levando ao aumento da glicemia e ao aumento do risco para o desenvolvimento do *diabetes mellitus*.[37]

Estabilizador de humor

O lítio é utilizado no tratamento do transtorno do humor bipolar, a fim de estabilizar o humor do paciente. Este fármaco é capaz de aumentar a sensibilidade dos tecidos periféricos à ação da insulina, promovendo um aumento da captação de glicose pelas células. Além disso, o lítio estimula a produção e a secreção de insulina pelas células beta pancreáticas e a glicogênese hepática e reduz a hiperglicemia pós-prandial, podendo auxiliar no controle glicêmico de pacientes com *diabetes mellitus*.[38]

Vitamina C

O uso de ácido ascórbico (vitamina C) interfere *in vitro* nos métodos da glicose oxidase e do sulfato cúprico, os quais empregam o processo de oxirredução para dosagem da glicemia. Como o ácido ascórbico é um medicamento altamente redutor, ele compete com o consumo de peróxido de oxigênio na reação, fornecendo valores falsamente diminuídos de glicose. Por este motivo, é recomendado suspender o uso deste medicamento pelo menos 12 horas antes da coleta da amostra.[39]

Antiprotozoário

O metronidazol é empregado no tratamento da tricomoníase, amebíase, giardíase, vaginites e infecções causadas por bactérias anaeróbicas.[40] O medicamento interfere no resultado de exames clínicos que apresentam reações enzimáticas de oxirredução da nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD/NADH), como o método da glicose hexoquinase. A alteração é decorrente da semelhança dos picos de absorvância da substância e do NADH em pH neutro. O resultado desta interferência é a diminuição dos valores de glicemia da amostra.[41]

A pentamidina é utilizada no tratamento da leishmaniose e da tripanossomíase e pode causar destruição nas células beta pancreáticas, resultando em deficiência na secreção de insulina e em hiperglicemia severa, e no desenvolvimento de *diabetes mellitus* dependente de insulinoterapia.[42]

Hipolipemiante

As estatinas, como sinvastatina, atorvastatina, lovastatina, pravastatina e rosuvastatina, são amplamente empregadas no tratamento da hipercolesterolemia com o objetivo de reduzir o risco cardiovascular. Contudo, este fármaco pode provocar o surgimento de intolerância à glicose e o aumento do risco de desenvolvimento de *diabetes mellitus*. O mecanismo responsável pelo aumento da glicemia envolve a inibição da produção de receptores GLUT4 nos adipócitos e a disfunção mitocondrial no tecido muscular esquelético, resultando em diminuição da captação de glicose pelos tecidos adiposo e muscular e, consequentemente, no aumento da resistência à insulina. Além disso, as estatinas podem promover uma redução da secreção de insulina pelas células beta pancreáticas, resultando em hiperglicemia.[43]

A niacina também tem sido utilizada no tratamento das dislipidemias, já que ela é capaz de promover aumento dos níveis de colesterol HDL e redução dos níveis de colesterol LDL, triglicérides e lipoproteína (a). Contudo, este fármaco pode causar como reação adversa o desenvolvimento de resistência à insulina e hiperglicemia.[44]

Tratamento da hiperuricemia

A hiperuricemia predispõe à obesidade abdominal e ao desenvolvimento de resistência periférica à insulina e diabetes mellitus. O alopurinol, por sua vez, reduz os níveis séricos de ácido úrico e, consequentemente, pode contribuir para reduzir a glicemia em pacientes com diabetes mellitus.[45]

Tratamento do tabagismo

A nicotina presente em medicamentos utilizados no tratamento do tabagismo favorece a resistência periférica à insulina por ser capaz de estimular reações inflamatórias que, consequentemente, provocam estresse oxidativo nas

células através da produção de espécies reativas de oxigênio. Este processo ativa fatores de transcrição responsáveis pela síntese de citocinas pró-inflamatórias que desencadeiam a resistência à insulina.[46]

Broncodilatadores

Os agonistas beta-adrenérgicos, como fenoterol, formoterol, salbutamol, salmeterol, metaproterenol e terbutalina possuem ação broncodilatadora e são utilizados no tratamento da asma. Estes medicamentos estimulam a gliconeogênese e a glicogenólise, principalmente quando administrados por nebulização, podendo causar aumento da glicemia.[47]

Antivirais

Os inibidores de protease, como ritonavir, lipinavir, saquinavir e atazanavir são amplamente utilizados no tratamento da infecção pelo HIV. Contudo, eles podem causar como reação adversa o aumento da glicemia, pois promovem o acúmulo de gordura da região abdominal e o surgimento de resistência à insulina.[48]

O interferon alfa tem sido utilizado no tratamento das hepatites B e C crônicas. Este fármaco pode causar uma resposta autoimune no organismo, na qual ocorre a produção de autoanticorpos antiácido glutâmico descarboxilase (anti-GAD), resultando na destruição das células beta pancreáticas e comprometendo a secreção de insulina. Por meio deste mecanismo, o interferon alfa pode causar como reação adversa o desenvolvimento de *diabetes mellitus* tipo 1.[49]

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vários medicamentos podem causar como reação adversa o desenvolvimento de hiperglicemia e DM, sendo essencial o monitoramento da glicemia dos indivíduos que utilizam estes medicamentos. Alguns medicamentos também podem provocar uma redução *in vivo* dos níveis de glicemia, principalmente quando utilizados em associação com medicamentos hipoglicemiantes. Deste modo, o conhecimento dos medicamentos que podem alterar *in vivo* os níveis glicêmicos é fundamental durante o acompanhamento de pacientes que apresentam DM para a realização de ajustes da dose dos hipoglicemiantes. Os medicamentos tetraciclina, metronidazol, ácido ascórbico e paracetamol também podem causar interferência *in vitro* na dosagem laboratorial da glicemia. A complexidade da interferência medicamentosa em exames laboratoriais para o diagnóstico e o monitoramento do DM reforça a necessidade de os profissionais da área da saúde estarem atentos a essas possíveis interferências, a fim de minimizar ou evitar erros de interpretação de laudos.

REFERÊNCIAS

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 10th edition. 2021.
2. Cobas R, Rodacki M, Giacaglia, et al. Diagnóstico do Diabetes e Rastreamento do Diabetes Mellitus Tipo 2. Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes. 2022.
3. Silva RS, Domingueti CP, Tinoco MS, et al. Interferência dos medicamentos nos exames laboratoriais. J Bras Patol Med Lab. 2021; 57:1-15.
4. Rodacki M, Teles M, Gabbay M. Classificação do Diabetes. Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes. 2022.
5. Kanashiro DH, Gameiro FD, Costa Júnior VL, et al. Interferências em exames laboratoriais: critério diagnóstico para o diabetes mellitus e principais fármacos hipoglicemiantes. Infarma - Ciências Farmacêuticas 2013. 30; 25(3):163-168.
6. Araújo MFM, Araújo TM, Alves PJS, Veras VS, et al. Uso de medicamentos, glicemia capilar, e índice de massa corpórea em pacientes com diabetes mellitus. Rev Bras Enferm. 2013; 66(5):709-14.
7. Proletto J, Dunlop SE. Diabetes and antipsychotic drugs. Australian Prescriber. 2004; 27(5):118-119.
8. Suh S, Park MK. Glucocorticoid-induced diabetes mellitus: an important but overlooked problem. Endocrinol Metabol. 2017; 32:180-189.
9. Baron SH. Salicylates as hypoglycemic agents. Diabetes care. 1982; 5(1):64-71.
10. Sone H, Takahashi A, Yamada N. Ibuprofen-related hypoglycemia in a patient receiving sulfonylureia. Annals of Internal Medicine. 2001; 134(4):344.
11. Metz S, Robertson RP, Fujimoto WY. Inhibition of prostaglandin E synthesis augments glucose-induced insulin secretion in cultured pancreas. Diabetes. 1981; 30(7):551-557.
12. Lopes J, Matheus ME. Risco de hepatotoxicidade do paracetamol (Acetaminofem). Rev Bras Farm. 2012; 93(4):411-414.
13. Farrance I, Aldons J. Paracetamol interference with YSI glucose analyzer. Clinical Chemistry. 1981; 27(5):782-783.
14. MacCullun MK, Ahmed I. Drug-induced hyperglycemia and diabetes mellitus. In: Goldsten BJ, Muller-Wieland D. Type 2 Diabetes. Principles and Practice. 2 ed. Informa Healthcare USA: New York. 2008.
15. Batlouni M. Diuretics. Rev Bras Hipertens. 2009; 16(4):211-214.
16. Wilcox CS. Metabolic and adverse effects of diurectis. Seminars in Nephrology. 1999; 19(6):557-568.
17. Altszuler N, Hampshire J, Moraru E. On the mechanism of diazoxide-induced hyperglycemia. Diabetes. 1977; 26(10):931-935.
18. DiTullio NW, Cieslinski L, Matthews WD, et al. Mechanisms involved in the hyperglycemic response induced by clonidine and other alpha-2 adrenoceptor agonists. J Pharmacol Exp Ther. 1984; 228(1):168-173.
19. Mohamed NS, Al-Karwi EN, Numan AT, et al. Effects of low doses of captopril or losartan in improving glycemic control by oral hypoglycemic agents in type 2 DM patients. AJPS. 2010; 8(2):33-45.
20. Morris AD, Boyle DI, MacMahon AD, et al. ACE inhibitor use is associated with hospitalization for severe hypoglycemia in patients with diabetes. DARTS/MEMO collaboration. Diabetes audit and research in Tayside, Scotland. Medicines monitorinf unit. Diabetes Care. 1997; 20(9):1363-1367.
21. Faria AN, Zanella MT, Kohlman O, et al. Tratamento de diabetes e hipertensão no paciente obeso. Arq Bras Endocrinol Metab. 2002; 46(2).
22. Gillespie EL, White CM, Kardas M, et al. The impact of ACE inhibitors or angiotensin II type 1 receptor blockers on the development of new-onset type 2 diabetes. Diabetes Care. 2005; 28(9):2261-2266.

23. Khodneva Y, Shalev A, Frank SJ. Calcium channel blocker use is associated with lower fasting serum glucose among adults with diabetes from the REGARDS study. Diabetes Research and Clinical Practice. 2016; 115:115-121.
24. Opie, Lionel H, Schall R. Old antihypertensives and new diabetes. Journal of Hypertension. 2004; 22(8):1453-1458.
25. Sasaki S, Yasuda T, Kaneto H, et al. Basal insulin requirements after progesterone treatment in a type 1 diabetic pregnant Woman. Intern Med. 2013; 52(2):259-262.
26. Pisarev MA. Interrelationships between the pancreas and the thyroid. Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity. 2010; 17(5):437-439.
27. Luger A, Mattsson AF, Koltowska-Haggstrom M, et al. Incidence of diabetes mellitus evolution of glucose parameters in growth hormone-deficiency subjects during growth hormone replacement therapy: a long-term observational study. Diabetes Care. 2012; 35(1):57-62.
28. Harika V, Parveen S, Venkatasubbaiah M, et al. Carbamazepine-induced hyperglycemia: a rare case report. Indian J Pharmacol. 2019; 51(5):352-353.
29. Britton HL, Schwinghammer TL. Phenytoin-induced hyperglycemia. Drug Intelligence & Clinical Pharmacy. 1980; 14(7-8):544-547.
30. Hammad MA, Tangiisuram B, Kharshid AM, et al. Drug-drug intercation-related uncontrolled glycemia. J Pharm Bioallied Sci. 2017; 9(4):221-228.
31. Mohr JF, McKinnon PS, Peymann PJ, et al. A retrospective, comparative evaluation of dysglycemias in hospitalized patients receiving gatifloxacin, levofloxacin, ciprofloxacin, or ceftriaxone. Pharmacotherapy. 2005; 25(10):1303-1309.
32. Ellis DE, Hubbard RA, Willis AW, et al. Comparative risk of serius hypoglycemia among persons dispensed a fluoroquinolone versus a non-fluoroquinolone antibiotic. Diabetes Research and Clinical Practice. 2022; 185.
33. Ganguly RJ, Abraham RR, Prasad R, et al. Hyperglycaemia induced by isoniazid preventive therapy. J Family Med Prim care. 2018; 7(5):1123-1125.
34. Motta, Valter T. Bioquímica clínica: princípios e interpretações. 5ed. Med book; 2009.
35. Zarucki VE, Cervetti MFS. Hipoglicemia por sulfametoxazol-trimetoprim. Salud Mil. 2020; 39(2):74-79.
36. Bhattacharjee S, Bhattacharya R, Kelley GA, et al. Antidepressant use and new-onset diabetes: a systematic review and meta-analysis. Diabetes Metab Res Rev. 2013; 29:273-284.
37. Marchetti P, Navalesit R. The metabolic effects of cyclosporin and tacrolimues. J Endocrinol Invest. 2000; 23:482-490.
38. Hu M, Wu H, Chao C. Assistin effects of lithium on hypoglicemic treatment in patients with diabetes. Biological Trace Element Research. 1997; 60:131-137.
39. Martinello F, Silva EL. Mechanism of ascorbic interference in biochemical tests that use peroxide and peroxidase to generate chromophore. Clinica Chimica Acta. 2006; 373(1-2):108-116.
40. Finegold SM. Metronidazole. Annals of Interne Medicine. 1980; 93(4):585-587.
41. Moura JAP. Interferência de medicamentos em exames laboratoriais. 2014. [dissertação]. Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba. 2014.
42. Liegl U, Bogner JR, Goebel FD. Insulin-dependent diabetes mellitus following pentamidine therapy in a patient with AIDS. Clin Investig. 1994; 72:1027-1029.
43. Aiman U, Najmi A, Khan RA. Statin induced diabetes and its clinical implications. J Pharmacol Pharmacother. 2014; 5(3):181-185.
44. Miller M. Niacin as a component of combination therapy for dyslipidemia. Mayo Clinic Proceedings. 2003; 78(6):735-742.
45. Miranda JA, Almeida GG, Martins RIL et al. O papel do ácido úrico na resistência insulínica em crianças e adolescentes com obesidade. Rev Paul Pediatr. 2015; 33(4):434-5.
46. Silva PE. Efeito do tabagismo passivo e do exercício físico associado sobre a expressão de transportador de glicose GLUT4 em músculos de ratos. 2009. [dissertação]. Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, Universidade Estadual Paulista. 2009.
47. Chawla S, Seth D, Cortez J. Asthma and Hyperglycemia. Clinical Pediatrics. 2007; 46(5):454-457.
48. Tsiodras S, Mantzorsos C, Hammer S, et al. Effects of protease inhibitors on hyperglycemia, hyperlipidemia, and lipodystrophy. A 5-year cohort study. Arch Intern Med. 2000; 160(13):2050-2056.
49. Zornitzki T, Malnick S, Lysyy L, et al. Interferon therapy in hepatitis C leading to chronic type 1 diabetes. World J Gastroenterol. 2015; 21(1):233-239.

Hantavirose: uma zoonose emergente e a necessidade de um diagnóstico rápido por RT-PCR

Hantavirose: an emerging zoonosis and the need for rapid diagnosis by RT-PCR

Werner Bessa Vieira[1]

[1] Mestre - (Professor). Centro Universitário Uniprojeção, Brasília, DF, Brasil.

Resumo

A pecuária e a urbanização descontrolada fazem emergir várias zoonoses, entre elas a hantavirose. O hantavírus pertence à família *Bunyaviridae* e sua transmissão ocorre pelo contato direto com roedores, portadores naturais dos vírus, ou com aerossóis de suas excretas. Esse mecanismo de infecção sugere que pessoas que vivem, trabalham ou praticam alguma outra atividade, esportiva ou recreativa, em locais que são habitat desses roedores têm maiores riscos de serem infectadas. Métodos sorológicos são comumente utilizados para o diagnóstico laboratorial dos mais variados tipos de hantavírus. No entanto, técnicas moleculares como RT-PCR podem identificar o RNA viral em pessoas contaminadas, mesmo antes de aparecerem os sintomas. Técnicas moleculares podem ser mais rápidas e sensíveis, podendo ainda quantificar material genético do vírus em diferentes tipos de amostras. Não existe tratamento específico para a hantavirose, mas um suporte terapêutico adequado pode reduzir a taxa de letalidade. Porém, um bom suporte terapêutico depende da rapidez do diagnóstico. O uso de RT-PCR ou RT-qPCR é alternativa para o diagnóstico sorológico por ELISA, uma vez que são testes mais rápidos, têm alta especificidade e sensibilidade e alto valor preditivo positivo e negativo.

Palavras-chave: Ensaio de Imunoadsorção Enzimática; Técnicas de Diagnóstico Molecular; Síndrome Pulmonar por Hantavirus

Abstract

The livestock and uncontrolled urbanization cause several zoonoses to emerge, including hantavirus. Hantavirus belongs to the Bunyaviridae family and its transmission occurs through direct contact with rodents, natural carriers of viruses or with aerosols of their excreta. This mechanism of infection suggests that people who live, work or practice some other activity, sports or recreational, in places with these rodents, are more likely to be infected. Serological methods are commonly used for laboratory diagnosis of the most varied types of hantavirus. However, molecular techniques, such as RT-PCR, can identify viral RNA in infected people, even before symptoms appear. Molecular techniques can be faster andmore sensitive, and can also quantify genetic material of the virus in different types of samples. There is no specific treatment for hantavirus pulmonary syndrome, but adequate therapeutic support may reduce the lethality rate. However, good therapeutic support depends on the speed of diagnosis. The use of RT-PCR or RT-q PCR is alternative for serological diagnosis by ELISA, since they are faster, have high specificity and sensitivity and high positive and negative predictive value.

Keywords: Hantavirus Pulmonary Syndrome; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; Molecular Diagnostic Techniques

Correspondência
Werner Bessa Vieira
E-mail: wernerbessavieira@gmail.com

Recebido em 09/06/2021 | Aprovado em 04/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202153

INTRODUÇÃO

A hantavirose é uma zoonose viral aguda emergente, causada por vírus da família *Bunyaviridae*.[1] O primeiro caso da doença foi descrito na Coreia em 1950, ocasião na qual recebeu o nome de febre hemorrágica coreana.[2] Seu agente etiológico foi isolado em 1977.

O vírus está presente em vários continentes, representando grande impacto para a saúde, com predominância da febre hemorrágica com síndrome renal (FHSR) na Eurásia e síndrome cardiopulmonar pelo hantavírus (SCPH) nas Américas.[3]

No Brasil, o primeiro caso de hantavírus foi descrito em 1993 no estado de São Paulo. Desde então, foram confirmados mais de 1.906 casos de SCPH até o ano de 2014, com predominância de casos na Região Sudeste, Sul e Centro-Oeste do país, sendo 40% deles envolvendo letalidade.[1,4]

No Distrito Federal, a doença apareceu como um surto em 2004, e desde então vários casos fatais foram registrados.[5]

Esses microrganismos pertencem a um grande grupo de vírus com genoma de RNA negativo fita simples e têm roedores como reservatório natural assintomático.[6]

O genoma de RNA do hantavírus é composto por três segmentos de diferentes tamanhos: S (do inglês *small*: pequeno), codifica a proteína N e nucleoproteínas; M (*medium*: médio), codifica as proteínas G1 e G2 envolvidas no reconhecimento da célula hospedeira e invasão celular; e o segmento L (*large*: grande), que codifica a RNA polimerase.[7,8]

A forma de transmissão da hantavirose ocorre pelo contato direto com roedores portadores naturais dos vírus ou com aerossóis de suas excretas.[6] Esse mecanismo de infecção sugere que pessoas que vivem, trabalham ou praticam alguma outra atividade, seja esportiva ou recreativa, em locais que são habitat destes roedores, têm maiores riscos de serem infectadas.[9]

Segundo o Ministério da Saúde,[10] os sintomas dessa doença percorrem quatro estágios.

O estágio prodrômico, que dura de 2 a 8 dias, é caracterizado pela presença de sintomas inespecíficos como febre, mialgia, dores de estômago e sintomas gastrointestinais. Nesse estágio, o paciente busca atenção médica, mas raramente é feito um teste sorológico, e quando tal teste é realizado, o resultado geralmente é negativo.[9]

O estágio cardiopulmonar caracteriza-se pela presença de tosse seca que pode rapidamente evoluir para um quadro severo de falência respiratória, causando a morte. Os pacientes que sobrevivem ao estágio cardiopulmonar apresentam diminuição da capacidade respiratória e cardíaca, em um estágio chamado de diurético. Por fim, o estágio de convalescença caracteriza-se por mal-estar e fadiga, podendo durar semanas ou meses.

O diagnóstico da hantavirose tem sido feito comumente por prova sorológica ELISA para identificação de IgM e IgG, imunofluorescência indireta, hemaglutinação passiva e *western blot*.[11]

A transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) também tem sido usada para identificação do genótipo viral, mas ainda é pouco utilizada no diagnóstico da hantavirose.[2,9,12-15]

A expansão agrícola no Brasil em direção ao Centro-Oeste e ao Norte, além do aumento do turismo rural, aproximou o homem de animais silvestres portadores naturais de zoonoses e vetores de muitas doenças. Pode-se tomar como exemplo a expansão da cultura da soja no norte do Mato Grosso, o que resultou na migração de uma grande quantidade de trabalhadores rurais de outros estados do Brasil para essa região.[16] Foi após essa expansão que doenças como febre amarela, malária, leishmaniose, consideradas endêmicas, passaram a ter maior número de casos diagnosticados.[17]

Além da expansão agrícola, outro setor importante que possui papel no aparecimento de zoonoses é o turismo. Esse setor é campeão em crescimento na economia global, uma vez que um em cada quatro cidadãos de um país desenvolvido visita outro país. Dentro desse mercado, o segmento que mais tem crescido com uma média de 10% ao ano é o ecoturismo. Com relação às zoonoses associadas a essas práticas, são elas a brucelose, hepatite E, leptospirose, encefalite transmitida por carrapatos e a hantavirose.[2,17]

Desse modo, considerando a expansão agrícola e o turismo rural, o artigo tem por objetivo reforçar, por meio de revisões da literatura, a possível relação entre as atividades desenvolvidas em ambiente natural ou rural com a emergência da hantavirose, bem como explicitar as características da doença especialmente no que concerne à busca de um diagnóstico rápido por RT-PCR como alternativa ao diagnóstico sorológico a fim de que sejam reduzidos drasticamente os óbitos causados por infecções por hantavírus.

METODOLOGIA

Para a elaboração desta revisão bibliográfica foi realizada uma busca por artigos em três bases de dados bibliográficos — PubMed, SciELO e LILACS. Foram selecionados artigos publicados entre 2013 e 2020, em linha portuguesa, inglesa e espanhola.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Epidemiologia do hantavírus no Brasil

As atividades humanas influenciadas pelas pressões socioeconômicas, como a agricultura, a pecuária, a habitação, a mineração, a construção de hidroelétricas, entre outras, provocam alterações da diversidade de plantas, animais e microrganismos. Como consequência, há a redução da biodiversidade, a introdução de espécies exóticas, a poluição e o aumento de vetores e reservatórios que promovem a transmissão de algumas doenças infecciosas.[18]

Acredita-se que a superfície da Terra foi alterada em mais de 75% e essas alterações estariam ligadas ao surgimento de epidemias de dengue, malária, chagas e surtos de hantavirose.[19]

Além disso, as alterações da estrutura dos ecossistemas perturbam os ciclos biogeoquímicos, o que pode favorecer uma espécie em detrimento de outra, podendo trazer sérios riscos à saúde humana.[20]

No Brasil, no período de novembro de 1993 a dezembro de 2009, foram confirmados 1.169 casos de hantavírus. Desse total, 473 (40,5%) foram registrados na Região Sul, sendo assim distribuídos: 211 (18,0%) no estado de Santa Catarina, 184 (15,7%) no Paraná e 78 (6,7%) no Rio Grande do Sul.

Na Região Sudeste, ocorreram 372 casos (31,8%), sendo 236 (20,2%) em Minas Gerais e 136 (11,6%) em São Paulo. Em seguida vem a Região Centro-Oeste, com 176 casos (15,1%) no Mato Grosso, 66 (5,6%) no Distrito Federal e 51 (4,4 %) em Goiás.

Na Região Norte, foram registrados 80 casos, sendo 73 (6,2%) no estado do Pará, quatro (0,3%) no Amazonas e apenas três (0,2%) casos em Rondônia. Na Região Nordeste ocorreram 14 casos (1,2%), no Maranhão (11 casos), Rio Grande do Norte (dois casos) e Bahia (um caso).

Quanto ao local de residência, 48,3% dos infectados viviam na zona rural, 46,2% na zona urbana e 2,4% na zona periurbana. Já em 5,4% dos casos, essa informação não estava disponível. As investigações indicam que a maior parte das pessoas (cerca de 75%) foi infectada em meio rural ou silvestre. Cerca de 50% dos acometidos desenvolviam atividades ocupacionais ligadas ao ramo da agricultura ou da pecuária.[21]

Com relação à Região Centro-Oeste do Brasil, entre 2007 a 2013 foram notificados 1.171 casos suspeitos de hantavirose no estado de Goiás. Desse total, 73 casos foram confirmados.

O ano de 2007 foi o ano com menor número de casos confirmados (6 casos), ao passo que os anos de 2009 a 2011 apresentaram os maiores números de casos confirmados (14 casos). Em 2013 houve apenas 8 casos confirmados, porém com 90% de letalidade.[1]

No Distrito Federal, a hantavirose apareceu como um surto em 2004. Passado o surto, notificações da doença têm ocorrido nos últimos anos, apresentando altas taxas de mortalidade.[5] Entre os anos de 2004 a 2014, foram confirmados 126 casos de hantavirose com prevalência de incidentes entre a faixa etária de 20 a 49 anos, em sua maioria homens.

No Distrito Federal a taxa de incidentes acumulada entre 2004 e 2013 foi de cinco casos por 100 mil habitantes, enquanto no restante do Brasil, entre 2001 a 2011, a taxa de incidentes acumulada foi de 0,080 casos por 100 mil habitantes.[2] A região administrativa de São Sebastião foi a mais afetada pela hantavirose, com a ocorrência de 21 casos (30%) entre os anos de 2004 a 2009. Nesse mesmo período, houve muitas mudanças ambientais relacionadas aos fatores antrópicos, como a expansão urbana e as atividades agropastoris.[22]

A expansão agrícola

O aumento das áreas cultivadas é um dos maiores problemas do século XXI. Segundo a Organização das Nações Unidas, a população global será de 9,7 bilhões em 2050 com uma demanda crescente por alimentos especialmente nos países em desenvolvimento, uma vez que nesses países há uma melhora na renda *per capita* e aumento da urbanização.

As nações como Rússia, Estados Unidos, Argentina, Austrália, Canadá e os membros da União Europeia já estão muito limitadas em espaço cultivável, sendo necessário um investimento tecnológico, fator que os torna inviáveis para concorrer com o mercado de países com grandes áreas cultiváveis.[16]

O Brasil é um desses países com grandes áreas cultiváveis e que teve sua expansão iniciada no Sul do país, indo em direção ao Cerrado. Regiões do Nordeste e do Norte do país têm experimentado o aumento do preço das terras em razão da possibilidade de crescimento das fronteiras agrícolas.[23]

Por exemplo, o crescimento médio da área de colheita da cultura da soja no Brasil aumentou 1,76% ao ano entre os anos de 1994 a 2013. No entanto, entre os anos de 2002 a 2005 houve os maiores aumentos, com pico máximo de 7,83% em 2004. Nesse mesmo ano houve surto de hantavirose no Distrito Federal.

Atualmente, o chamado complexo soja-carne Brasil-China impulsionou a expansão da área cultivada no Brasil, uma vez que, para atender a demanda chinesa, o país tem buscado expandir suas fronteiras agrícolas em direção ao Centro-Oeste e Norte do Brasil.[24]

Segundo o Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE),[25] a taxa consolidada de desmatamento para os nove estados da Amazônia Legal Brasileira (ALB), baseada nos dados gerados pelo Projeto de Monitoramento do Desmatamento na Amazônia Legal por Satélite (PRODES), mostrou uma taxa de 10.129km^2 de corte raso no período de agosto de 2018 a julho de 2019. O PRODES considera como desmatamento a remoção completa da cobertura florestal primária por corte raso, independentemente da futura utilização destas áreas.

Ocorre que, seja para cultivo ou pasto, o desmatamento de áreas nativas coloca o ser humano em contato direto com roedores, portadores naturais do hantavírus, aumentando, assim, os riscos de transmissão da doença.

Além do grande aumento da área de cultivo, especialmente no Cerrado, outros fatores podem estar envolvidos no surto que ocorreu no Distrito Federal em 2004. Pesquisas sugerem que a proximidade de residências das áreas silvestres, a expansão urbana e a criação de condomínios ou de assentamentos para a população vêm trazendo problemas não somente de ordem ambiental, como a perda de vegetação nativa ou comprometimento dos recursos hídricos, mas também problemas de ordem sanitária, como a proliferação de vetores e de animais, reservatórios de doenças infectocontagiosas

Diagnóstico da hantavirose

Na fase prodrômica, o quadro clínico das infecções por hantavírus (SCPH) tem em comum febre, mialgias, dor lombar, dor abdominal, cefaleia e sintomas gastrointestinais, com tempo de duração entre 1 a 6 dias.[10]

Nessa fase, a suspeita clínica da hantavirose está associada à avaliação de aspectos epidemiológicos e fatores de riscos, além de outros fatores associados, como: linfócitos atípicos >10%; plaquetopenia (<150.000 até 20.000 plaquetas/mm^3); leucócitos normais ou elevados com desvio à esquerda (>5.600 células/mm^3); hemoconcentração (>45%); VHS normal ou elevada; raios X normal ou com infiltrados intersticiais difusos, uni ou bilaterais.[10]

Na fase cardiopulmonar, a doença caracteriza-se por febre; dispneia; taquipneia; taquicardia; tosse seca; hipotensão; edema pulmonar não cardiogênico e choque circulatório. O início dessa fase ocorre geralmente a partir do sétimo dia e dura cerca de 5 dias, com taxa de letalidade variando entre 40% e 50%.

Na fase cardiopulmonar os exames clínicos mostram leucocitose; neutrofilia com desvio à esquerda com formas jovens; granulócitos imaturos; linfopenia relativa com linfócitos atípicos; hemoconcentração; plaquetopenia; redução da atividade protrombínica e aumento no tempo parcial de tromboplastina; fibrinogênio normal; acidose metabólica; elevação nos níveis séricos de TGO, TGP e DHL; hipoproteinemia; albuminemia; proteinúria; hipoxemia arterial; raios X com infiltrado pulmonar bilateral, podendo ocorrer derrame pleural, uni ou bilateral.[12]

O diagnóstico precoce da hantavirose, principalmente durante a fase prodrômica, é importante para que o tratamento de suporte seja iniciado, evitando assim a progressão da doença. Porém, deve-se considerar que a fase prodrômica é indistinguível de outras doenças agudas febris. Assim, para um diagnóstico mais preciso devem ser considerados os aspectos epidemiológicos e exames laboratoriais.

Métodos sorológicos são comumente utilizados para o diagnóstico laboratorial dos mais variados tipos de hantavírus, incluindo imunoensaio enzimático (ELISA), considerado padrão ouro, ensaio de imunofluorescência, ensaio de imunoblot e imunocromatografia.[9,26-28]

O exame laboratorial para o diagnóstico do hantavírus da espécie Araraquara, comum no Cerrado, é feito por imunoensaio enzimático (ELISA), com identificação de IgM e/ou IgG, usando uma proteína (N) recombinante, em *Escherichia coli*, do nucleocapsídeo, segmento menor (S).[13,29]

Técnicas moleculares podem ser mais rápidas e sensíveis, podendo ainda quantificar material genético do vírus em diferentes tipos de amostras. Dentre elas, a RT-PCR (transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase) pode identificar RNA viral em pessoas contaminadas mesmo antes de aparecerem os sintomas.[9]

No Brasil, uma RT-PCR convencional foi capaz de detectar o hantavírus Araraquara em amostras de sangue e em ratos silvestres.[26]

Uma evolução da RT-PCR convencional, a RT-qPCR (RT-PCR quantitativa) apresenta várias vantagens sobre a antecessora, incluindo rapidez, alta sensibilidade e quantificação. Essa técnica foi desenvolvida permitindo a detecção e quantificação de hantavírus das espécies *Puumala* e *Andes*.[26]

No Brasil, a RT-qPCR foi usada para detectar hantavírus da espécie Juquitiba em roedores capturados na Mata Atlântica.[26]

Os pacientes com SCPH têm alto nível de viremia e o diagnóstico molecular feito por RT-PCR pode identificar RNA no sangue do paciente precocemente.[26] Além disso, o RNA viral pode ser encontrado no organismo nos primeiros 7 a 10 dias da infecção antes mesmo de entrar no estágio cardiopulmonar.[2,14,29]

Estudos comparativos entre diagnóstico ELISA e RT-qPCR mostraram que o segundo foi mais sensível, altamente específico e rendeu alto valor preditivo positivo e negativo. Em algumas amostras de sangue, o ELISA apresentou resultado falso negativo e o RT-qPCR pôde ser utilizado como contraprova, mostrando que essa técnica é excelente para diagnóstico.[9,26,27]

CONCLUSÃO

A hantavirose é uma zoonose emergente que ocorre a partir do contato do homem com aerossóis de excretas de roedores silvestres, reservatórios naturais dos vírus. Esse contato é facilitado pela proximidade que o homem vem tendo com tais roedores, como consequência das pressões socioeconômicas e também das atividades de lazer e esporte em meio a ambientes naturais que são o habitat natural dos roedores.

As atividades humanas sob a influência de pressões socioeconômicas, tais como: a agricultura, a pecuária, a habitação, a mineração, a construção de hidroelétricas, entre outras, trouxeram consequências para o meio ambiente levando ao aumento dos casos de zoonoses. Por isso, uma vez que não há tratamento específico, faz-se necessário um suporte terapêutico adequado, o qual depende de um diagnóstico preciso e precoce.

Portanto, o uso de RT-PCR e/ou RT-qPCR são alternativas para o diagnóstico sorológico por ELISA, uma vez que são mais rápidos, têm alta especificidade e sensibilidade.

REFERÊNCIAS

1. Filho HRM, Moreli ML, Sousa ALL, Costa VG. Estudo Transversal da Letalidade da Hantavirose no Estado de Goiás, 2007-2013. Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, 25(3):519-530, jul-set 2016.
2. Dusi R, Bredt A, Freitas DRC, Bo MIR, Silva JAM, Oliveira SV, Tauil PL. Ten Years of a Hantavirus Disease Emergency in The Federal District, Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, [s.l.], v. 49, n. 1, p.34-40, fev. 2016.
3. Laine Outi, et al. Elevated thrombopoietin and platelet indices confirm active thrombopoiesis but fail to predict clinical severity of puumala hantavirus infection. Medicine, [s.l.], v. 95, n. 52, p.1-6, dez. 2016.
4. Guterres A, Oliveira RC, Fernandes J, D'Andrea PS, Bonvicino CR, Bragagnolo C, et al. Phylogenetic analysis of the S segment from Juquitiba hantavirus: identification of two distinct lineages in Oligoryzomys nigripes. Infect Genet Evol. 2013 Aug;(18):262-8.
5. Oliveira SV, Fonseca LX, Barros PMR, Pereira SVC, Caldas EP. Análise do Perfil Epidemiológico da Hantavirose no Brasil no Período de 2007 a 2012. Rev Patol Trop; 43:131-142. 2014.
6. Li S, Rissanen I, Zeltina A, Hepojoki J, Raghwani J, Harlos K, Pybus OG, Huiskonen JTA. Molecular-Level Account of the Antigenic Hantaviral Surface. Cell Reports, [s.l.], v. 15, n. 5, p.959-967, maio 2016.
7. Kleinfelter LM, Jangra RK, Jae LT, Herbert AS, Mittler E, Stiles KM, Wirchnianski AS, Kielian M, Brummelkamp TR, Dye JM, Chandrana K. Haploid Genetic Screen Reveals a Profound and Direct Dependence on Cholesterol for Hantavirus Membrane Fusion. Mbio, [s.l.], v. 6, n. 4, p.1-15, 30 jun. 2015.
8. Iglesias AA, Bellomo CM, Martinez VP. Síndrome Pulmonar por Hantavirus en Buenos Aires, 2009-2014. MEDICINA- Volumen 76 – n. 1, 2016.
9. Vial C, Martinez-Valdebenitoc C, Riosa S, Martineza J, Viala P, Ferresc M, Riveraa JC, Pereza R, Valdivieso F. Molecular method for the detection of Andes hantavirus infection: validation for clinical diagnostics. Diagnostic Microbiology And Infectious Disease, [s.l.], v. 84, n. 1, p.36-39, jan. 2016.
10. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de Vigilância, Prevenção e Controle das Hantaviroses. Brasília; Ministério da Saúde, 2013.
11. Limongi, Jean Ezequiel et al. Serological survey of hantavirus in rodents in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo [online]. 2013, v. 55, n. 3 [Accessed 19 September 2022] , pp. 155-158. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652013000300003
12. Navarrete M, Hott M, Caroca J, Leyton L, Venegas N, Ismail K, Saavedra F, Otth C. Correlación entre criterios clínicos y de laboratorio de casos notificados por sospecha de hantavirosis y el resultado de la técnica de referencia. Revista Chilena de Infectología, [s.l.], v. 33, n. 3, p.275-281, jun. 2016.
13. Santos IO, Figueiredo GG, Figueiredo LTM, Azevedo MRA, Novo NF, Vaz CAC. Serologic survey of hantavirus in a rural population from the northern State of Mato Grosso, Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 46(1):30-33, Jan-Feb, 2013.
14. Willemann MCA, Oliveira SV. Risk factors associated with hantavirosis fatality: a regional analysis from a case-control study in Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, [s.l.], v. 47, n. 1, p.47-51, jan. 2014.
15. Cordova CMM, Figueiredo LTM. Serologic Survey on Hantavirus in Blood Donors from the State of Santa Catarina, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, [s.l.], v. 56, n. 4, p.277-279, jul. 2014.
16. Freitas RE, Mendonça MAA. Expansão Agrícola no Brasil e a Participação da Soja: 20 anos. RESR, Piracicaba-SP, v. 54, n. 3, p. 497-516, jul/set 2016.
17. Zanella JRC. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. Pesquisa Agropecuária Brasileira, [s.l.], v. 51, n. 5, p.510-519, maio 2016.
18. Santos JP, Oliveira SV, Steinke VA. O Uso e a Cobertura da Terra e a Sua Relação com a Hantavirose na Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno. R. Ra'e Ga – Curitiba, v. 37, p. 282 - 306, Ago/2016.
19. Brearley, G. et al. Wildlife disease prevalence in human-modified landscapes. Biological Reviews, v.88, n. 2, p. 427-442, 2013.
20. Gottdenker NL, Streicker DG, Faust CL, Carroll CR. Anthropogenic Land Use Change and Infectious Diseases: A Review of the Evidence. EcoHealth, vol. 11, n.4, p. 619-632. 2014.
21. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Casos confirmados de hantavirose no Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1993 a 2015. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2015.
22. Santos JP, Steinkel ET, Garcá-Zapata MTA. Uso e Ocupação do Solo e a Disseminação da Hantavirose na Região de São Sebastião, Distrito Federal: 2004 – 2008. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 44(1):53-57, jan-fev, 2011.
23. Gasques JG, Botelho F, Bastos ET. Preço de terras e sua valorização. Brasília: Mapa/AGE, versão preliminar, 8p. 2015.
24. Escher F, Wilkinson J. A economia política do complexo Soja-Carne Brasil-China. Rev. Econ. Sociol. Rural, Brasília, v. 57, n. 4, p. 656-678, oct-dec. 2019.
25. INPE. A taxa consolidada de desmatamento por corte raso para os nove estados da Amazônia Legal (AC, AM, AP, MA, MT, PA, RO, RR e TO) em 2019 é de 10.129 km2. 2020. Acesso em 19/01/2021. http://www.inpe.br/noticias/noticia.php?Cod_Noticia=5465.

26. Machado AM, Souza WM, Pádua M, Machado ARSR, Figueiredo LTM. Development of a One-Step SYBR Green I Real-Time RT-PCR Assay for the Detection and Quantitation of Araraquara and Rio Mamore Hantavirus. Viruses, 5, 2272-2281; 2013.
27. Jiang W, Yu H, Zhao K, Zhang Y, Du H, Wang P, Bai X. Quantification of Hantaan Virus with a SYBR Green I Based One-Step qRT-PCR Assay. PLoS ONE8(11): e81525. 2013.
28. Hepojoki IS, Rusanen J, Hepojoki J, Nurmi V, Vaheri A, Lundkvist A, Hedman K, Vapalahti O. Competitive Homogeneous Immunoassay for Rapid Serodiagnosis of Hantavirus Disease. J Clin Microbiol. 53:2292–2297. 2015.
29. Vieira CJSP, Silva DJF, Barreto ES, Siqueira CSH, Costa VG, Lourenço FJ, Moreli ML, Bronzoni RVM. Serological evidence of hantavirus infection in an urban area in Mato Grosso State, Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, [s.l.], v. 49, n. 3, p.348-350, jun. 2016.

Estudo microbiológico de amostras de água provenientes de farmácias e de centrais de materiais e esterilização hospitalares

Microbiological study of water samples from pharmacies and hospital material and sterilization centers

Bianca Stüker[1], Rosiéli Martini[1], Rita Denise Niederauer Weiss[1], Vanessa Teixeira Kunz Paraginski[1], Barbara Charlotte Bach[1]

[1] Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Microbiologia e Parasitologia – Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

Resumo

Introdução: A água, amplamente utilizada em várias formulações farmacêuticas, também está presente na lavagem e esterilização dos materiais utilizados. *Objetivo:* Esta pesquisa teve por finalidade o controle microbiológico de amostras de águas de farmácias e de Centrais de Materiais e Esterilização (CME) hospitalares. *Método:* As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Microbiológicas da Universidade Federal de Santa Maria. Através da técnica dos tubos múltiplos e do Número Mais Provável por mililitro de amostra, obteve-se a contagem de Coliformes Totais e Termotolerantes. A contagem de Bactérias Heterotróficas (BH) foi realizada em placas de Petri contendo Ágar Padrão Contagem. A pesquisa e confirmação de Escherichia coli foi feita em Ágar Eosina Azul de Metileno e testes bioquímicos. E para Pseudomonas sp. com Ágar Cetrimide e testes bioquímicos. *Resultados:* Um total de 185 amostras de água foi analisado, 111 (60%) para uso farmacêutico e 74 (40%) para uso em CME. Do total das amostras analisadas, 64,8% foram satisfatórias, 67,8% das amostras foram satisfatórias para uso farmacêutico e 60,8% para CMEs. Já as insatisfatórias, oriundas de Farmácias, todas apresentaram apenas contagem de BH superior ao limite recomendado, e somente 1 amostra insatisfatória de CME apresentou contagem de Coliformes e *E. coli*, as demais, índice de BH elevado. *Pseudomonas sp*. não foi encontrada nas amostras. *Conclusões:* Foi possível verificar uma boa qualidade nas amostras analisadas. Constatando-se, assim, que o processo de purificação de água está bom, no entanto pode ser otimizado através de um monitoramento mais frequente, principalmente para águas de CMEs, garantindo assim, uma qualidade microbiológica melhor.

Palavras-chave: Água; Farmácia; Esterilização; Técnicas Microbiológicas; Bactérias

Abstract

Introduction: Water is widely used in various pharmaceutical formulations, it is also present in washing and sterilizing the materials used. *Objective:* This research aimed at the microbiological control of water samples from Pharmacies and Materials and Sterilization Centers (MSC). *Method:* The analyzes were performed at the Microbiological Analysis Laboratory of the Federal University of Santa Maria, through the technique of multiple tubes and the Most Probable Number per milliliter of sample, the total and thermotolerant coliforms count was obtained. The counting of Heterotrophic Bacteria (HB) was performed in Petri dishes containing Standard Count Agar. The research and confirmation of Escherichia coli was made with Methylene Blue Eosin Agar and biochemical tests. And for Pseudomonas sp. with Cetrimide Agar and biochemical tests. *Results:* A total of 185 water samples were analyzed, 111 (60%) for pharmaceutical use and 74 (40%) for use in MSCs. Of the total samples analyzed, 64.8% were satisfactory, 67.8% of the samples were satisfactory for pharmaceutical use and 60.8% for MSCs. The unsatisfactory ones, coming from Pharmacies, all presented only above the recommended limit of HB count, and only 1 unsatisfactory sample of MSCs had Coliform and E. coli count, the other elevated HB index. Pseudomonas sp. was not found in the samples. *Conclusions:* It was possible to verify a good quality in the analyzed samples. As a result, the water purification process is good, however it can be optimized through more frequent monitoring, especially for MSCs waters, thus ensuring better microbiological quality.

Keywords: Water; Pharmacy; Sterilization; Microbiological Techniques; Bacteria

Correspondência
Rosiéli Martini
E-mail: rosifarma@gmail.com

Recebido em 01/12/2021 | Aprovado em 20/04/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200004

INTRODUÇÃO

A água é a matéria-prima de maior utilização na produção de várias formas farmacêuticas, sendo também utilizada para a limpeza e esterilização dos materiais utilizados durante as técnicas de manipulação. Além disso, é amplamente usada nas Centrais de Materiais e Esterilização (CME) hospitalares para limpeza e esterilização de superfícies, equipamentos e utensílios.[1]

É também considerada um dos principais meios de transmissão de microrganismos em farmácias e hospitais, que são os principais Centros de Saúde. A presença destes microrganismos na água pode provocar diversos problemas graves de saúde para a população, pois causam diferentes doenças infecciosas.[2]

Nos Centros de Saúde, a água denominada potável é utilizada nos processos iniciais de limpeza e também para a obtenção de águas com maior grau de pureza. A maioria dos processos que utiliza água no âmbito hospitalar e farmacêutico requer tratamentos adicionais desta água potável mediante diferentes processos de purificação, como a destilação, deionização, troca iônica, osmose reversa, entre outros. Estes procedimentos devem se guiar por um controle de qualidade periódico para garantir que o sistema de purificação esteja adequado e que a água obtida tenha boa qualidade.[3]

Em busca dessa boa qualidade da água, realiza-se o controle microbiológico. Este controle, bem como os limites bacterianos para as amostras de água purificada de uso em farmácias são definidos pela Farmacopeia Brasileira, edição em vigor.[3] Já para as águas utilizadas em CME hospitalares, a Resolução RDC nº 15, de 15 de março de 2012, que dispõe sobre os requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para saúde e dá outras providências, define que a água utilizada para enxágue destes produtos deve atender aos padrões de potabilidade e para os produtos considerados críticos, o enxágue deve ser realizado com água purificada.[4] Os limites bacterianos para esta água de CME, que pode ser potável e/ou purificada, seguem as recomendações da Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI).[4,5]

Estes documentos aqui citados orientam que, tanto para as amostras de águas de uso farmacêutico como de CME hospitalar, devem ser feitas as contagens de bactérias heterotróficas (BH), de coliformes totais (CT) e coliformes termotolerantes (CTe) ou fecais (CF), assim como a verificação da presença de *Escherichia coli* e de *Pseudomonas sp.* Para se obter um resultado favorável da qualidade microbiológica da água purificada para uso farmacêutico, a contagem de BH não deve ultrapassar $1x10^2$ Unidades Formadoras de Colônia por mililitro (UFC/mL) (≤ 100 UFC/mL). E para a água utilizada nas CME hospitalares a contagem de BH deve ser inferior a $2x10^2$ UFC/mL (< 200 UFC/mL). Além disso, bactérias do grupo coliformes devem estar ausentes, bem como *E. coli* e bactérias do gênero *Pseudomonas*.[3,5]

As BH normalmente são definidas como microrganismos que requerem carbono orgânico como fonte de nutrientes e que são capazes de fornecer informações sobre a qualidade microbiológica da água de uma forma ampla.[6] Já os CT são bactérias Gram-negativas, não esporogênicos, aeróbios ou aeróbios facultativos, fermentadores de lactose com produção de gás. São bactérias que ocorrem no ambiente, originárias do trato intestinal de humanos e de animais de sangue quente. E os CTe também fermentam a lactose, produzem gás e são indicadores confirmatórios de contaminação fecal, tendo como principal representante a bactéria *E. coli*, entre outras.[7-9]

A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* é considerada um bacilo Gram-negativo não fermentador de glicose (BGN-NF), aeróbico, não formador de esporos e pertencente à Família *Pseudomonadaceae*.[10,11] Em humanos comporta-se como patógeno oportunista, permanecendo em tecidos quando há quebra de barreiras naturais ou perda da imunidade. No entanto, em algumas situações, faz parte da flora normal de indivíduos sadios, e é considerado um dos principais agentes causadores de infecções hospitalares no Brasil.[12]

Assim, o presente estudo teve por finalidade verificar a qualidade microbiológica de amostras de água provenientes de farmácias e de Centrais de Materiais e Esterilização Hospitalares.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta das Amostras e Local do Estudo

As amostras foram coletadas pelos responsáveis pelo controle da qualidade da água de cada farmácia e hospital, seguindo as orientações de coleta e armazenamento fornecidas pela equipe do Laboratório de Análises Microbiológicas (LabMicro), conforme as recomendações da Farmacopeia Brasileira[3] e AAMI[5]. As coletas foram efetuadas em recipientes de vidro borossilicato estéreis ou bolsas/frascos plásticos estéreis apropriados para o uso microbiológico. O volume da amostra, em torno de 100mL, foi suficiente para realizar todas as análises necessárias e o recipiente permitiu a homogeneização antes da realização das técnicas.

Os testes microbiológicos foram realizados nas amostras em até duas horas após a coleta. Quando não foi possível proceder o teste neste intervalo, devido ao envio tardio da amostra após a coleta ao laboratório, esta, de acordo com o responsável pela coleta, foi mantida em temperatura de refrigeração na faixa de 2°C a 8°C. No entanto, as análises foram executadas dentro do período de 24 horas após a coleta, a fim de manter as características microbiológicas da amostra.

As análises foram realizadas no LabMicro, localizado no Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DeMiP), do Centro de Ciências da Saúde (CCS), da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Estas amostras de água foram oriundas de farmácias e de CME hospitalares, provenientes de Santa Maria e região. A pesquisa foi efetuada durante o período de quatro anos, de janeiro de 2016 a dezembro de 2019. Este estudo foi realizado a partir de um projeto de extensão intitulado "Investigação de Microrganismos Indicadores Biológicos de Qualidade, Higiene e Segurança Alimentar em Santa Maria e Região".

Meios Utilizados e Técnicas Empregadas

Antes do início das análises microbiológicas, para as amostras que eram oriundas de rede de abastecimento ou de poço artesiano com cloração, procedeu-se a neutralização dos agentes desinfetantes com uma solução de tiossulfato de sódio (0,1mL de uma solução a 3% neutraliza acima de 5mg/L de cloro residual em uma amostra de 120mL). Assim foi possível garantir uma recuperação adequada dos microrganismos possivelmente presentes. Para as diferentes amostras foram realizadas a contagem de BH em placas de Petri contendo ágar padrão contagem (PCA), nas quais foram semeadas alíquotas de 0,1mL da amostra pura e de cada diluição realizada. Após, foram incubadas por um período de 24 a 48 horas em estufa bacteriológica na temperatura de 35 ± 0,2ºC. O resultado foi expresso pela média obtida das três diferentes semeaduras, em UFC/mL. Para a análise de CT e CTe, os materiais utilizados foram caldo laurel sulfato (CLS), caldo verde brilhante (CVB) e caldo *escherichia coli* (CEC), seguindo a técnica dos tubos múltiplos e determinação do Número Mais Provável (NMP) por mililitro (mL) de amostra, segundo a American Public Health Association (APHA).[7,13]

Para todas as amostras de água, foram realizadas as diluições decimais seriadas da seguinte maneira: da amostra pura foi transferido assepticamente 1mL da amostra para um tubo contendo 9mL da salina tamponada (diluição 10-1); posteriormente, foi transferido 1mL desta diluição para um outro tubo contendo novamente 9mL de salina tamponada (diluição 10-2). Também da amostra pura e de cada uma das diluições, foi semeado 1mL em três diferentes tubos contendo CLS, com tubos de Durhan invertidos no seu interior. Após a semeadura os tubos foram incubados por um período de 24 a 48 horas em estufa bacteriológica na temperatura de 36,5ºC ± 0,2ºC.

A seguir, realizou-se a leitura, e dos tubos em que ocorreu crescimento com produção de gás (observada pela presença de bolhas nos tubos de Durhan), foram transferidas alíquotas, através de alça de platina, para tubos contendo CVB, também com tubos de Durhan invertidos, e incubados novamente nas mesmas condições, para contagem de CT. Os tubos de CVB considerados positivos foram semeados em tubos com CEC, com Durhan invertidos, para contagem de CTe e incubados pelo mesmo período, porém a uma temperatura de 45ºC ± 0,2ºC. De cada um destes tubos com crescimento e produção de gás, foi semeada uma alça do conteúdo em ágar eosina azul de metileno (EMB Oxoid®), para isolamento de colônias características de *E. coli*, sendo a presença destas confirmada através de testes bioquímicos.

A estimativa do número de coliformes foi feita pela associação dos tubos positivos (crescimento com produção de gás) e negativos com base na tabela do NMP.[13] E para *P. aeruginosa* e demais bactérias do gênero *Pseudomonas*, foram utilizadas placas de Petri contendo ágar cetrimide e posteriores testes bioquímicos para identificação.[14,15]

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período do estudo, um total de 185 amostras de água foi analisado, sendo 111 (60%) amostras de água purificada para uso farmacêutico e 74 (40%) amostras de água para uso hospitalar em CME. Entre as águas purificadas de uso farmacêutico, 106 amostras foram obtidas pelo processo de destilação e 5 por osmose reversa.

Todas as amostras de água de uso hospitalar foram oriundas de CME, sendo 59 amostras de água potável obtidas através de rede de abastecimento, 11 amostras de água purificada por osmose reversa, e 4 amostras de água potável provenientes de poços artesianos, das quais 2 com tratamento de cloro.

Em relação ao total das análises microbiológicas realizadas em cada ano do estudo, em 2019 foi efetuado o maior índice de análises, 34,8% (65/185). O Gráfico 1 demonstra as análises microbiológicas em cada ano do estudo e a distribuição das amostras conforme a sua finalidade de uso.

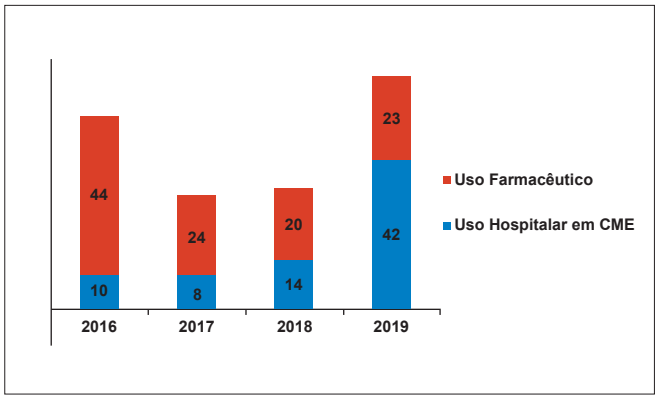


Gráfico 1

Distribuição das 185 amostras analisadas nos quatro anos de estudo, conforme a sua finalidade de uso

Fonte: Autoras (2020)

De acordo com o total de amostras de águas analisadas neste estudo, verificou-se uma maior busca (111/185) por análises microbiológicas de amostras de águas de uso farmacêutico. Isto se deve, principalmente, à recomendação que o controle microbiológico deve ser feito, no mínimo, mensalmente, pela Resolução RDC nº 67, de 08 de outubro de 2007, a qual dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficinais para Uso Humano em Farmácias.[16]

Já para as amostras de água utilizadas em CME hospitalares, observou-se um menor número (74/185) de análises, quando comparado ao número de análises de amostras de água de uso em farmácias, podendo ser justificado em razão da determinação da AAMI, que recomenda que o controle microbiológico seja realizado uma vez ao mês ou pelo menos trimestralmente. Assim, diante da periodicidade das análises realizadas no laboratório, pode-se afirmar que alguns hospitais atendidos seguem a orientação de análise trimestral.[5]

Esta associação dedica-se a promover o desenvolvimento, o gerenciamento e o uso de tecnologia de saúde com segurança e eficácia. É considerada a principal fonte de padrões de consenso para o setor de dispositivos médicos, além de informações práticas, suporte e orientação para profissionais de tecnologia e esterilização em saúde. As informações referentes às águas de CME hospitalares encontram-se em um Relatório de Informações Técnicas (TIR) denominado Water for the Reprocessing of Medical Devices, que orienta a seleção e a manutenção de água com qualidade efetiva e adequada para reprocessar os dispositivos médicos. Fornece diretrizes para a seleção da qualidade da água necessária para o reprocessamento de várias categorias de dispositivos médicos e o tratamento, a distribuição e o armazenamento da água de equipamentos, bem como os procedimentos de controle para monitoramento da qualidade da água e estratégias para controle bacteriano e ambientais.[5]

O padrão de potabilidade microbiológico satisfatório, obtido a partir de todas as análises realizadas neste estudo, foi de 64,9% (120/185). Analisando separadamente conforme sua finalidade, para as águas de uso farmacêutico uma taxa de 67,6% (75/111) foi satisfatória e para a CME, 60,8% (45/74). Observa-se uma mínima diferença de satisfação entre as duas diferentes classes de água do estudo, sendo que as amostras de uso em farmácias mostraram um índice satisfatório um pouco melhor.

Andrade e colaboradores, em 2005, efetuaram um estudo em amostras de água purificada para fins farmacêuticos, obtidas de Farmácias de Manipulação em Goiânia (Goiás), e evidenciaram que 44% das amostras estavam em desacordo com as especificações farmacopeicas, por possuírem valores de BH superiores aos limites estabelecidos.[17] Este estudo demonstrou um índice de contaminação bacteriana maior quando comparado às águas obtidas de farmácia do presente estudo (32,4%). Já uma pesquisa por Moreno e colaboradores, em 2011, em amostras de água purificada oriundas de Farmácias Magistrais, em São José do Rio Preto (São Paulo), demonstrou que 20% das amostras analisadas não estavam em conformidade com os parâmetros microbiológicos recomendados,[1] demonstrando um menor índice de contaminação microbiana quando comparado as águas de uso farmacêutico desta pesquisa (32,4%).

No que tange às amostras insatisfatórias (36/111) de água para uso farmacêutico, estas apresentaram apenas contagem de BH superior ao limite estabelecido pela Farmacopeia Brasileira[3] e nenhuma amostra demonstrou crescimento de Coliformes e/ou *E. coli* e/ou *Pseudomonas sp*., diferentemente das pesquisas realizadas por: Andrade e colaboradores, em 2005, que detectaram a presença *de E. coli* em uma amostra.[17]

Moreno e colaboradores, em 2011, demonstraram uma porcentagem de 16,7% de presença de CT e CTe, e em 10% a presença de *P. aeruginosa*.[1] Dos Santos e colaboradores, em 2014, realizaram um estudo de qualidade microbiológica em águas purificadas de uso farmacêutico em diferentes cidades de São Paulo e relataram uma taxa de 4,56% (34/744) de contaminação por CT.[18]

A maior contagem de BH verificada nas amostras de água com fins farmacêuticos, foi de 1 x 105 UFC/mL, e nesta

mesma amostra identificou-se a presença de um bacilo gram-negativo não fermentador de glicose, identificado como *Acinetobacter sp*. Estes bacilos são responsáveis por diversas infecções, como pneumonias, septicemias, infecções urinárias e meningites, principalmente em pacientes imunocomprometidos que estão internados nas unidades de terapia intensiva (UTI). É considerada uma bactéria oportunista de grande importância nas infecções nosocomiais e possui uma excelente capacidade de adquirir resistência aos antibióticos. Evidências sugerem que *Acinetobacter baumannii* adquirida em infecções hospitalares prolongam o tempo de internação, bem como os custos subsequentes de assistência médica.[19]

Analisando os processos de obtenção das diferentes águas purificadas, de uso farmacêutico, a porcentagem insatisfatória foi maior nas amostras obtidas pelo processo de osmose reversa (60% – 3/5), quando correlacionado ao processo de destilação (31,1% – 33/106). Em comparação com a destilação, o uso unicamente da osmose reversa pode aumentar o risco de contaminação microbiológica, devido principalmente à alta probabilidade de formação de biofilme nas membranas.[20]

A osmose reversa remove 90% a 99% da maioria dos contaminantes, mas a eficiência no processo está relacionada a diversos fatores como o tipo de polímero da membrana utilizada, temperatura, pH e a pressão diferencial ao longo da membrana.[3] Muitas vezes os equipamentos de purificação de água são considerados uma fonte crítica de contaminação microbiológica, pois procedimentos de limpeza e sanitização inadequados também possibilitam a formação de biofilme. Assim, estas comunidades de bactérias instalam um ciclo contínuo de crescimento, a partir de compostos orgânicos, que são os próprios nutrientes para os microrganismos.[21] Além disso, entre os métodos de purificação, a destilação já é consagrada pelo seu longo histórico de confiabilidade.[3]

Em relação ao total das 74 amostras de águas provenientes das CME hospitalares, observamos um percentual satisfatório em 60,8% (45/74). No que se refere às amostras consideradas insatisfatórias, o índice encontrado foi de 39,2% (29/74). Nestas amostras, a maior contagem de BH foi de 5,9 x 104 UFC/mL, sendo que somente uma destas amostras de água apresentou coliformes e *E. coli*, correspondendo a 1,3% (1/74), esta amostra era oriunda da rede de abastecimento. No que se refere à contaminação microbiológica por bactérias do gênero coliformes, um estudo realizado por Barros e colaboradores, em 2015, em 70 amostras de águas de diferentes pontos da rede hidráulica de um hospital público em Minas Gerais, sendo 7 de CME, demonstrou que o índice de contaminação por CT destas CME foi 42,8% (3/7),[22] índice muito maior quando comparado ao identificado no presente estudo, 1,3% (1/74). Já em estudo realizado por De Souza e colaboradores, em 2016, em um hospital de Minas Gerais em amostras de águas de diferentes pontos, incluindo água para enxágue final de roupas hospitalares, a presença de CT e CTe foi negativa em todas as análises.[23]

No que tange à presença de *Pseudomonas sp*. neste estudo, este microrganismo não foi encontrado, o que difere do estudo realizado por Barros e colaboradores, em 2015, que identificou a presença de *Pseudomonas aeruginosa* além de *Acinetobacter spp*. e *Klebsiella oxytoca* nas amostras de CME.[22] De Souza e colaboradores, em 2016, também evidenciaram a presença de bactérias do grupo Pseudomonas em água utilizada para enxágue final de roupas hospitalares.[23]

As amostras de águas utilizadas nas CME hospitalares provenientes de poços artesianos sem tratamento apresentaram a maior porcentagem insatisfatória (2/2 – 100%), seguido das amostras de osmose reversa (6/11 – 54,5%). Já nas que possuíam tratamento com cloro (rede de abastecimento e poços artesianos tratados), a menor porcentagem foi de 34,4% (21/61) de amostras insatisfatórias. Este resultado reforça a importância do tratamento prévio da água com cloro. Apesar de não ter se mostrado completamente eficaz, a cloração, em parte, pode ter sido responsável por este menor índice de contaminação. Como relatado por Bello e colaboradores, o processo de cloração é eficiente na inativação de bactérias, resultando em uma melhor qualidade microbiológica da água.[24]

O controle de qualidade da água está intimamente relacionado aos exames periódicos que monitoram a sua potabilidade, principalmente para verificar as condições da água que é recebida nos estabelecimentos, bem como averiguar o funcionamento e a eficácia do sistema de tratamento interno escolhido.[25] A importância deste controle periódico e contínuo pode ser ratificada a partir dos resultados do estudo de Cavassin e colaboradores, que verificaram o papel dos filtros como fonte de contaminação da água em ambientes hospitalares. A água ofertada pela rede disponível no hospital manteve sempre níveis excelentes em relação aos teores de cloro e da qualidade microbiológica. Mas, após filtração, um índice de 19,23% dos filtros testados passou a apresentar alguma contaminação por BH, mesmo dentro dos limites estabelecidos como aceitáveis.[26]

A partir do estudo de Cavassin e colaboradores, pode-se ratificar os dados do presente estudo em relação aos processos de filtração/purificação, pois as amostras provenientes de

rede de abastecimento obtiveram um menor índice insatisfatório (33,9%), quando comparadas às amostras oriundas do processo de osmose reversa (54,5%). Este valor elevado pode estar relacionado à conservação e ao funcionamento insatisfatórios do sistema de purificação da água.

Diversas pesquisas demonstram a qualidade microbiológica da água utilizada nas CME hospitalares, principalmente através de análises dos equipamentos e utensílios manipulados neste setor. Crema e colaboradores realizaram uma pesquisa em instrumentos usados em cirurgia laparoscópica (trocáteres, pinças e bisturi ultrassônico) e processados na CME de um Hospital de Minas Gerais, totalizando 1016 culturas destes instrumentos. Nenhuma amostra demonstrou crescimento de microrganismos, evidenciando assim a boa qualidade microbiológica da água utilizada nestas CME.[27]

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo são de suma importância para a saúde de toda a população. A partir destes dados foi possível verificar que 64,9% do total de amostras foi considerado satisfatório, sendo este um bom índice de potabilidade. Um percentual de 35,1% foi considerado insatisfatório, devido principalmente à contagem de BH superiores aos limites estabelecidos pelas legislações. Obteve-se um pequeno índice (0,5%) de amostras com a presença de coliformes e *E. coli.* Além disso, nenhuma amostra apresentou contaminação por bactérias do gênero *Pseudomonas*.

No entanto, mesmo com o menor índice de amostras insatisfatórias, sabe-se da importância e da necessidade da qualidade microbiológica em amostras de águas, principalmente quando utilizadas em centros de saúde. Pode-se também afirmar que análises microbiológicas mais frequentes resultam em índices de qualidade microbiológica melhor, como foi encontrado nas amostras de águas de uso farmacêutico. Além disso, proporciona uma maior rapidez na busca e desfecho da contaminação, resultando assim na obtenção de um resultado excelente.

SUPORTE FINANCEIRO

Fundação de Apoio à Tecnologia e Ciência (FATEC) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul (SM/RS).

Pró-Reitoria de Assuntos Estudantis (PRAE) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul (SM/RS).

AGRADECIMENTOS

A toda a equipe do Laboratório de Análises Microbiológicas (LabMicro) e aos demais componentes do Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DeMiP) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul (SM/RS).

REFERÊNCIAS

1. Moreno AH, Tozo GCG, Salgado HRN. Avaliação da qualidade da água purificada em farmácias magistrais da região de São José do Rio Preto, SP. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, Araraquara, v. 32, n. 1, p. 69-75, 2011.
2. Dias RS et al. Infecção hospitalar - IH - causas múltiplas e fatores de risco associados a microrganismos de veiculação hídrica. Revista Tecer, Belo Horizonte, v. 1, n. 1, p. 54-60, dez. 2008.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. 6ª ed. Brasília: ANVISA, 2019. v. 1.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 15, de 15 de março de 2012. Dispõe sobre os requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para a saúde e dá outras providências. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.
5. ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF MEDICAL INSTRUMENTATION. Water for the reprocessing of medical devices. AAMI TIR34:2007. Arlington: AAMI, 2007.
6. Guerra NMM et al. Ocorrência de Pseudomonas aeruginosa em água potável. Acta Scientiarum Biological Sciences, Maringá, v. 28, n. 1, p. 13-18, jan./mar. 2006.
7. Da Silva N et al. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 4ª ed. São Paulo: Varela, 2010.
8. Da Silva CC et al. Análises do perfil bacteriológico das águas do Ribeirão das Antas, no município de Cambuí-MG, como indicador de saúde e impacto ambiental. Revista Agrogeoambiental, Pouso Alegre, n. 2, p. 61-66, 2014.
9. De Sá, MF. Dinâmica da população de coliformes após a aplicação de dejetos de suínos no solo e durante a sua compostagem automatizada. 2012. 81 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo, Área de Concentração Biodinâmica e Manejo do Solo). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.
10. Fuentefria DB et al. Pseudomonas aeruginosa: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Uberaba, v. 41, n. 5, p. 470-473, 2008.
11. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Microbiologia. 8ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
12. Stheling EG, Leite DS, Silveira WD. Molecular typing and biological characteristics of Pseudomonas aeruginosa isolated from cystic fibrosis patients in Brazil. Brazilian Society of Infectious Diseases, São Paulo, v. 14, n. 5, p. 462-467, 2010.
13. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standart methods for the examination of the wather and wastewater. 21. ed. Washington: APHA, 2005.
14. Koneman EW et al. Diagnóstico Microbiológico. 6ª ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2008.
15. Oplustil CP et al. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2010.
16. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 67, de 08 de outubro de 2007. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficinais para Uso Humano em Farmácias. Brasília: Ministério da Saúde, 2007.

17. Andrade FRO et al. Análise microbiológica de matérias primas e formulações farmacêuticas magistrais. Revista Eletrônica de Farmácia, Goiânia, v. 2, n. 2, p. 38-44, 2005.
18. Dos Santos NV et al. Avaliação da qualidade de águas purificadas utilizadas em farmácias de manipulação. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, Araraquara, v. 35, n. 3, p. 419-23, set. 2014.
19. Scarcella ACA, Scarcella ASA, Beretta ALRZ. Infecção relacionada à assistência à saúde associada a Acinetobacter baumannii: revisão de literatura. Revista Brasileira de Análises Clínicas, Araras, v. 49, n. 1, p. 18-21, 2017.
20. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Qualidade para Sistemas de Purificação de Água para Uso Farmacêutico. Brasília: ANVISA, 2013.
21. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública n° 312, de 20 de fevereiro de 2017. O Diretor da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe foi conferida pela Portaria nº 211, de 6 de fevereiro de 2017, [...]. Brasília: ANVISA, 2017.
22. Barros B et al. Presença de coliformes totais na rede hidráulica de um hospital público de ensino no estado de Minas Gerais, Brasil. Revista UNINGÁ Review, Maringá, v. 21, n. 3, p. 05-07, jan./mar. 2015.
23. De Souza GHB et al. Pseudomonas aeruginosa em hospital da microrregião de Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil. Infarma – Ciências Farmacêuticas, Ouro Preto, v. 28, p. 234-240, 2016.
24. Bello ARC, Angelis DF, Domingos RN. Ultrasound efficiency in relation to sodium hypochlorite and filtration adsorption in microbial elimination in a water treatment plant. Brazilian Archives of Biology and Technology, Curitiba, v. 48, n. 5, p. 739-745, set. 2005.
25. De Souza RQ, Graziano KU. Qualidade da água: fatos e mitos! Revista SOBECC, São Paulo, v. 21, n. 4, p. 210-212, out./dez. 2016.
26. Cavassin ED et al. Análise microbiológica de água filtrada por filtros domésticos em ambiente hospitalar. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde. v. 20/21, n. 2, p. 49-56, jun. 1999/2000.
27. Crema E et al. Comparison of methods for the sterilization of instruments used for laparoscopic surgery. Brazilian Journal of Videoendoscopic Surgery, Rio de Janeiro, v. 3, n. 3, p. 134-138, jul./set. 2010.

Incidência de parasitoses em uma comunidade quilombola de Joinville, Santa Catarina

Incidence of parasitosis in a quilombola community of Joinville, Santa Catarina

Amanda Niedermaier[1], *Carlos Eduardo Gozdziejewski*[1], *Laysa Azevedo Simones*[1], *Daiani Cristina Savi*[1]

[1] Centro Universitário – Católica de Santa Catarina, Biomedicina – Joinville, Santa Catarina, Brasil.

Resumo

Introdução: As parasitoses intestinais estão relacionadas com condições de higiene pessoal e saneamento básico precário. Países em desenvolvimento, como o Brasil, parasitoses ainda causam sérios problemas de saúde pública, acometendo principalmente comunidades mais vulneráveis. *Objetivo:* Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a incidência de parasitoses intestinais em uma comunidade de Quilombolas localizada no município de Joinville. *Método:* A comunidade foi selecionada devido a sérios problemas de saneamento básico, uma vez que até 2019 não tinha coleta de esgoto. Foram analisadas amostras de fezes de 42 indivíduos. Vinte participantes (47,6%) apresentaram resultados positivos. Entre os parasitas presentes estavam a *Endolimax nana, Giardia lamblia, Entamoeba coli, Ascaris lumbricoides* e *Strongyloides stercoralis. E. nana* e *G. lamblia* foram os parasitas mais frequentes, acometendo 32% e 9,5% dos participantes, respectivamente. *Resultados:* Quando analisado o número de parasitas por indivíduo, foi observado que 60% dos casos positivos eram acometidos por 1 parasita, em 25% foram encontrados 2 parasitas e em 15%, 3 parasitas. A idade foi um fator condicionante importante, visto que houve maior incidência de parasitoses em indivíduos menores de 18 anos. Além do trabalho de prevalência, foi produzido material educativo/informativo sobre a importância de medidas de higienização de alimentos e mãos no controle da transmissão de parasitas, os quais são de extrema valia, tendo em vista a alta taxa de parasitoses encontrada no local.

Palavras-chave: Saneamento básico; Epidemiologia; Parasitologia

Abstract

Introduction: The intestinal parasites are relating to the precarious conditions of personal hygiene and sanitation. In underdeveloped countries, like Brazil, parasites can cause serious problems of public health, affecting especially the vulnerable communities. *Objective:* So, this project aims to evaluate the incidence of intestinal parasites in a Quilombola community located in Joinville city. *Method:* The community was selected in view of the absence of sanitary conditions, mainly caused by the lack of sewage treatment until 2019. Feces from 42 participants were collected, wherein 20 samples (47,6%) showed positive results. The parasites found were Endolimax nana, Giardia lamblia, Entamoeba coli, Ascaris lumbricoides e Strongyloides stercoralis, being E. nana and G. lamblia the more frequent, infection 32% and 9,5% of the participants, respective. *Results:* When analyzed the number of parasites by individual, was observed that 60% of positive cases were affected by one parasite, and in 25% of participants two parasites were found and in 15% three parasites. The age was an important factor, once the incidence of parasites was higher in participants with lower than 18 years old. In addition to the prevalence study, educational/informative material was produced, focusing on the importance of hygiene measures to control the transmission of parasites, which are extremely valuable, given the high rate of parasites found in the community.

Keywords: Basic sanitation; Epidemiology; Parasitology

Correspondência
Daiani Cristina Savi
E-mail: daianicsavi@gmail.com

Recebido em 17/01/2022 | Aprovado em 30/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200012

INTRODUÇÃO

No Brasil, existe uma heterogenia racial e cultural que é constantemente evidenciada tanto em estudos de aspectos sociais e antropológicos quanto no dia a dia da comunidade. Apesar de a maioria da população brasileira ser descendente de africanos, é notável a supressão dos seus valores étnicos e culturais, ficando, assim, à margem da sociedade. Entre essa população, destacam-se as comunidades quilombolas.[1-3]

Segundo a Fundação Cultural dos Palmares, estima-se que no Brasil há 1,17 milhões de quilombolas. Atualmente em Santa Catarina existem 17 comunidades reconhecidas, localizadas em 15 municípios.[1] Na Comunidade Caminho Curto, localizada em Joinville, Santa Catarina, vivem 98 pessoas, sendo 45% delas crianças. Essas pessoas estão alocadas em 24 residências, em uma área de aproximadamente 5.600 metros quadrados. A comunidade está no terreno desde o século XIX, porém, somente em 2019, garantiram o reconhecimento oficial como comunidade quilombola. Também, somente no mesmo ano, receberam tratamento de esgoto através do projeto da ONG Engenheiros sem Fronteiras.[4] No entanto, a situação de higiene e saneamento básico da comunidade, que agora está ganhando visibilidade pela sociedade, ainda é precária.

Muitas doenças se relacionam com o tratamento de esgoto, dentre elas estão as parasitoses intestinais, que causam de 2 a 3 milhões de óbitos por ano.[5] Muitos dos casos de parasitoses poderiam ser evitados com as práticas básicas, como lavagem dos alimentos e mãos, assim como a instalação de redes e tratamento de esgoto, evitando assim a exposição da população.[6]

Os alimentos podem representar uma fonte de contaminação quando não devidamente higienizados, devido aos microrganismos ali presentes. Geralmente, a contaminação pelos mesmos ocorre pela falta de higiene do manipulador, lixo ou dejetos no local de plantio, contaminação cruzada e outros. Esses microrganismos causam as doenças veiculadas por alimento (DVA), mais comumente causadas por parasitos. Os sintomas mais comuns incluem mal-estar, náusea, diarreia, cólicas abdominais e outros.[6,7]

Neste sentido, práticas como limpar o ambiente, lavar bem as mãos após ir ao banheiro, lavar os alimentos para retirar qualquer resquício de sujeira do ambiente, dentre outras, auxiliam na prevenção à contaminação por microrganismos.[6,7]

Assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a incidência de parasitoses intestinais em uma comunidade de quilombolas localizada no município de Joinville, bem como a produção de material informativo sobre a importância da higiene pessoal e de alimentos no controle de transmissão de parasitos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta da amostra biológica

A comunidade de quilombolas Caminho Curto está localizada no bairro Pirabeiraba, em Joinville – SC, e em 2020, data em que foi realizado o estudo, a mesma era composta por aproximadamente 100 integrantes. Para a realização da pesquisa primeiramente o projeto foi apresentado à comunidade, e os indivíduos que optaram por fazer parte do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Os participantes foram instruídos sobre como fazer a coleta das fezes, e após os pesquisadores disponibilizaram um frasco de coleta da marca Coproplus®, contendo o conservante Mercúrio Iodo Formol (MIF), para cada indivíduo. Os participantes coletaram as amostras e homogeneizaram o frasco por inversão para que o material biológico entrasse em contato com o conservante. Após 2 dias da entrega dos frascos os pesquisadores retornaram à comunidade para buscar o material coletado e também coletar dados como sexo e idade. As amostras foram transportadas até o laboratório utilizando caixas térmicas.

Exame parasitológico de Fezes

As amostras foram concentradas através de 24 horas de sedimentação, utilizando a técnica de Hoffman, que se baseia na lei gravitacional para concentrar parasitos intestinais (ovos, cistos, oocistos e larvas de inúmeras espécies). Posteriormente à concentração, foi transferida uma gota do sedimento e uma gota de lugol para uma lâmina e a análise da presença de parasitos foi realizada em microscópio óptico.[8] As amostras foram avaliadas em duplicata por dois analistas diferentes.

Devolutiva dos resultados da pesquisa à comunidade

Ao final do projeto, os resultados dos exames foram devolvidos aos participantes, assim como uma visão panorâmica sobre a situação parasitológica da comunidade foi passada aos líderes da comunidade. Além disso, utilizando o site Canvas, foi produzido material educativo sobre medidas profiláticas para parasitoses intestinais, com ênfase na manipulação, armazenamento e preparo de alimentos.

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa em Seres Humanos, com protocolo sob o nº 3.908.463, atendendo a Norma Operacional nº 001/2013 da Resolução

nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, de acordo com as normas que orientam a pesquisa com seres humanos.

RESULTADOS

Foram analisadas amostras fecais de 42 indivíduos, sendo que 20 delas foram positivas para parasitos intestinais. Dentre os parasitos encontrados *Endolimax nana* foi o mais frequente, presente em 14 amostras fecais, seguido por *Giardia lamblia*, encontrado em 4 amostras, *Entamoeba coli* e *Entamoeba histolytica* foram encontrados em 3 amostras, e *Ascaris lumbricoides* encontrado em 2 amostras, assim como *Strongyloides stercoralis* (Tabela 1).

Quando analisado o número de parasitos por indivíduos que apresentaram exame parasitológico de fezes positivo, foi observado que quase a metade da população estudada apresentava parasitas intestinais (47,6% ou 20 indivíduos) e que 19% (8 indivíduos) da população de estudo apresentavam poliparasitismo – 5 (11,9%) eram colonizados por 2 parasitos e 3 indivíduos (7,1%) por 3 parasitos (ver Tabela 1).

Dos 42 participantes, 62% (26) são do sexo feminino e 38% (16) do sexo masculino. Entre as mulheres 46,15% (12) possuíam parasitos e, entre os homens, 50% (8) foram positivos para parasitos intestinais. Dos casos positivos, 14 são indivíduos menores de 18 anos (70%) e, destes, 8 foram infectados com mais de um parasito. Os demais casos positivos, 6 indivíduos (30%) são maiores de 18 anos e apenas 3 destes estavam infectados com mais de um parasito (Tabela 1).

O resultado da pesquisa foi retornado à comunidade e também foi produzido e apresentado à comunidade materiais educativos com informações sobre higiene das mãos e alimentos baseados nas recomendações da ANVISA (Figuras 1, 2 e 3).

Tabela 1

Relação entre casos positivos, parasitos encontrados, sexo e idade dos participantes

Participante	Sexo	Idade	Número de Parasitos	Parasitos encontrados
Indivíduo 1	F	<18	2	*Giardia lamblia*, *Endolimax nana*
Indivíduo 2	F	>18	1	*Endolimax nana*
Indivíduo 3	M	<18	3	*Giardia lamblia*, *Endolimax nana*, *Entamoeba histolytica*
Indivíduo 4	F	>18	1	*Entamoeba histolytica*
Indivíduo 5	F	<18	2	*Endolimax nana*, *Entamoeba coli*
Indivíduo 6	M	<18	1	*Endolimax nana*
Indivíduo 7	M	<18	1	*Endolimax nana*
Indivíduo 8	F	<18	1	*Endolimax nana*
Indivíduo 9	M	<18	1	*Endolimax nana*
Indivíduo 10	F	<18	1	*Endolimax nana*
Indivíduo 11	F	<18	3	*Ascaris lumbricoides*, *Giardia lamblia*, *Endolimax nana*
Indivíduo 12	F	<18	2	*Ascaris lumbricoides*, *Endolimax nana*
Indivíduo 13	M	<18	1	*Strongiloides stercoralis*

Tabela 1 (continuação)

Participante	Sexo	Idade	Número de Parasitos	Parasitos encontrados
Indivíduo 14	M	<18	1	*Endolimax nana*
Indivíduo 15	M	>18	2	*Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica*
Indivíduo 16	F	>18	2	*Endolimax nana*, *Giardia lamblia*
Indivíduo 17	F	>18	3	*Entamoeba coli*, *Endolimax nana* *Strongiloides stercoralis*
Indivíduo 18	M	<18	1	*Endolimax nana*
Indivíduo 19	F	<18	1	*Endolimax nana*
Indivíduo 20	F	>18	1	*Endolimax nana*
Indivíduo 21	F	>18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 22	F	>18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 23	F	>18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 24	F	>18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 25	F	>18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 26	F	>18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 27	F	<18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 28	F	<18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 29	F	<18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 30	F	<18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 31	F	<18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 32	F	<18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 33	F	<18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 34	F	<18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 35	M	>18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 36	M	>18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 37	M	>18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 38	M	<18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 39	M	<18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 40	M	<18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 41	M	<18	0	Ausência de parasitos
Indivíduo 42	M	<18	0	Ausência de parasitos



Figura 1
Folheto explicativo sobre quando se deve lavar as mãos



Figura 2
Folheto explicativo sobre como se lavar as mãos

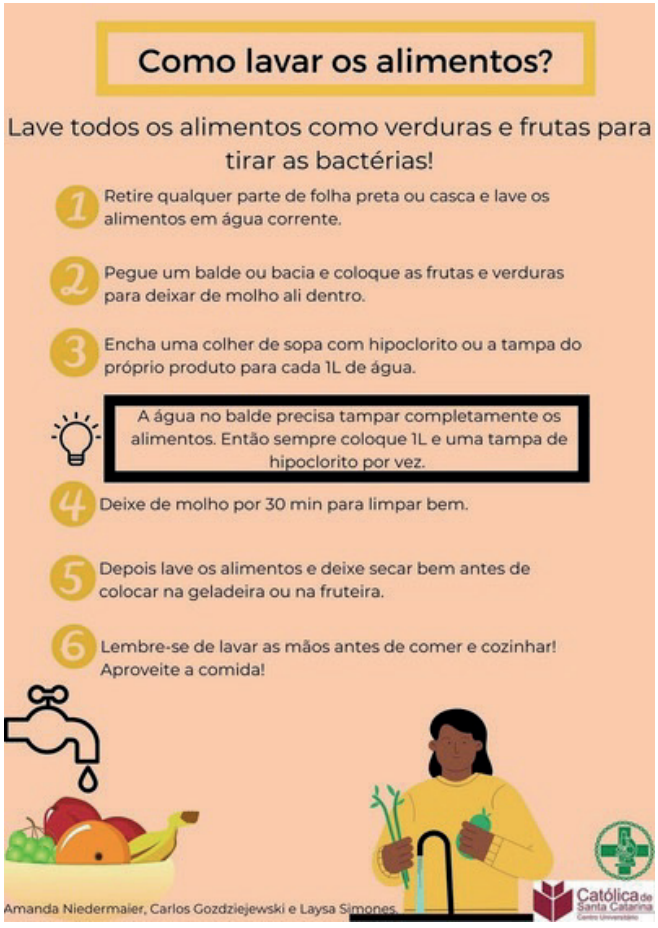


Figura 3
Folheto explicativo sobre como lavar os alimentos

DISCUSSÃO

O presente estudo identificou a incidência de parasitos presente na Comunidade Quilombola Caminho Curto, de Joinville – SC. No Brasil, muitas pessoas vivem em situação de vulnerabilidade, à margem de programas sociais, de saúde e educacionais. Assim, estudos de incidência de parasitoses intestinais são de grande importância para entender a situação epidemiológica, principalmente de comunidades carentes, e promover medidas de apoio social, educacional e de saúde voltadas a essas populações.

Neste trabalho, aproximadamente 48% dos indivíduos que participaram da pesquisa estavam contaminados com parasitos intestinais. Em relação ao sexo biológico dos participantes, a grande maioria dos participantes (62%) eram do sexo feminino (26), em comparação ao masculino, 38% (16). Em relação ao percentual de indivíduos infectados de cada

sexo, os dados foram próximos a 50% para ambos, mostrando que o fator sexo biológico não é um quesito determinante nas parasitoses intestinais nessa comunidade.

Outro fator analisado foi a faixa etária dos participantes: houve prevalência de parasitoses em participantes menores de 18 anos; apenas 6 dos infectados eram maiores de 18 anos. A relação da idade e infecção parasitária era esperada, devido aos poucos hábitos higiênicos observados em crianças, associados a condições ambientais favoráveis ao contato com parasitos, uma vez que na comunidade as crianças brincavam em um ambiente contaminado com esgoto a céu aberto.

O estudo de Santos e colaboradores, em 2010, mostrou que em uma população focada apenas em crianças, houve 83% de positividade em parasitoses intestinais, com a prevalência de monoparasitismo (53%), sendo que o poliparasitismo foi observado em apenas 30% dos casos positivos. No presente estudo foi observado um poliparasitismo maior, em 40% dos casos positivos, o que pode estar relacionado às condições precárias de saneamento básico encontradas no local até recentemente.[9]

Endolimax nana foi o parasito mais frequente, encontrado em 85% (17) das amostras positivas. Dado similar ao encontrado por Amor e Oliveira, 2013, em que uma alta incidência desse parasito foi observada. Apesar da elevada frequência, *E. nana* é um parasito comensal, que não causa grandes danos ao corpo humano, além de leves diarreias e desconfortos abdominais.[10] No entanto, pode ser considerado um indicativo de condições de higiene alimentar precária.

O segundo parasito mais frequente foi o protozoário *Giardia lamblia*, fator preocupante, pois as infecções crônicas, principalmente em crianças, podem acarretar retardo significativo do crescimento e do desenvolvimento cognitivo, conforme é reportado em estudo realizado no Egito, onde se constatou significativa diminuição nos níveis séricos de ferro e zinco em crianças infectadas por *G. lamblia* quando comparadas com um grupo controle livre desta infecção.[11]

Após *Giardia lamblia*, a maior prevalência foi dos parasitos *Entamoeba histolytica*, *Ascaris lumbricoides* e *Strongyloides stercoralis*, que também são patogênicos e ocasionam sérios problemas à pessoa infectada, desde diarreia até sangramentos intestinais. Outro fator importante é que todos eles podem ser adquiridos a partir das fezes de uma pessoa infectada, fator esse que pode estar relacionado à ausência de esgoto tratado na comunidade até o final do ano de 2019 e agravado pelo baixo conhecimento e utilização de higienização de alimentos e mãos pela comunidade.[11, 12]

No Brasil, poucos trabalhos destacam ou abordam as problemáticas de comunidades quilombolas. Apesar da enorme riqueza cultural, tais comunidades não possuem ações sociais para melhoria da qualidade de vida, o que as tornam muitas vezes marginalizadas pela sociedade.[13,14] Damazio e colaboradores registraram em uma comunidade quilombola no Norte do Espírito Santo uma taxa de infestação parasitária de 42,7%.[15]

Dados similares foram encontrados em outra comunidade quilombola em Monte Alegre, com uma ocorrência de parasitoses de 40,6%. O presente estudo suportado pelas literaturas citadas demonstra que os quilombolas permanecem um grupo vulnerável a essas patologias e que medidas de educação em saúde precisam ser implantadas focando essa população. Outras comunidades desprovidas de ação governamental já foram descritas com problemáticas similares como, por exemplo, a comunidade quilombola no município de Bias Fortes em Minas Gerais e a comunidade indígena Mbyá-Guarani de Porto Alegre no Rio Grande do Sul.[16,17]

Alguns estudos demonstram que o declínio na ocorrência de parasitoses está diretamente associado às melhorias das condições de saneamento básico e, portanto, melhorias na qualidade de vida.[16-18] As políticas de saúde devem contemplar não apenas o diagnóstico e tratamento específico de indivíduos infectados, mas também a eliminação de fontes de infecção. Fontes e colaboradores demonstraram que a redução drástica de helmintíases e protozoonoses está associada a tratamentos diretos utilizando os medicamentos adequados em conjunto com melhoria das habitações, acesso à saúde pública, educação sanitária complementando as melhorias socioeconômica.[18]

O conhecimento sobre as formas e fontes de contaminação por parasitos pode ser um fator importante para reverter essa situação, pois sem conhecimento, principalmente das crianças, a comunidade não compreende a devida importância da higiene pessoal e de alimentos. Neste sentido, folhetos informativos e uma atividade didática foram desenvolvidos para serem colocados na comunidade e nas escolas onde as crianças estudam, a fim de auxiliar no aprendizado sobre higiene básica visando a redução da infecção por parasitos intestinais.

CONCLUSÕES

Elevada taxa de contaminação foi encontrada na população de quilombolas estudada, onde aproximadamente 50% dos participantes foram positivos para pelo menos um

parasito. Entre os fatores analisados, foi observado que a faixa etária é um fator importante para a incidência de parasitos, uma vez que 70% dos casos positivos foram em indivíduos com menos de 18 anos. Entre as medidas necessárias, agora que a comunidade possui tratamento de esgoto, seriam trabalhos de educação em saúde visando a instrução da comunidade sobre a importância de boas práticas de higiene para a prevenção de parasitoses intestinais bem como o tratamento dos casos positivos e doses profiláticas.

REFERÊNCIAS

1. Freitas IA de, et al. Perfil sociodemográfico e epidemiológico de uma comunidade quilombola na Amazônia Brasileira. Rev Cuid. 2018; 9(2): 2187-200. Disponível em: http://www.scielo.org.co/pdf/cuid/v9n2/2216-0973-cuid-9-2-2187.pdf. Acesso em: 15 abr. 2021.
2. Cunha FG, Albano SG. Identidades quilombolas: políticas, dispositivos e etnogêneses. Revista de Estudios Latinoamericanos Volume 64, p 153-184. México, 2017. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1665857417300066#sec0015. Acesso em: 14 abr. 2021.
3. Yabeta D, Gomes F. Cidadania e direitos de comunidades remanescentes (em torno de um documento da história dos quilombolas da Marambaia). Revista Afro-Ásia no.47. Salvador, 2013. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-05912013000100003&lang=p. Acesso em: 17 abr. 2021.
4. Auada P. Gerenciamento de Equipes Técnicas Multidisciplinares para a Implantação de Rede de Saneamento Básico da Comunidade Caminho Curto, Localizada em Joinville/SC, na Região de Pirabeiraba. Joinville, 2019.
5. Antunes RS, de Souza APF, Xavier E de FP, Borges PR. Parasitoses intestinais: prevalência e aspectos epidemiológicos em moradores de rua. Revista Brasileira de Análises Clínicas, Anápolis, v. 52, n. 1, p. 1-3, 2020. Revista Brasileira de Análises Clínicas. http://dx.doi.org/10.21877/2448-3877.202000894. Disponível em: http://www.rbac.org.br/artigos/parasitoses-intestinais-prevalencia-e-aspectosepidemiologicos-em-moradores-de-rua/. Acesso em: 24 abr. 2021.
6. BRASIL. Resolução RDC n° 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação.
7. PREFEITURA DE BELO HORIZONTE. Higiene, Armazenamento e Conservação dos Alimentos. 2010. Disponível em: Capa Higiene e Conservação (pbh.gov.br). Acesso em: 16 mai. 2021.
8. Lima FLO, Santos CSC, Alemeida, FC, Rocha LS, Lima AGD. Um século do exame parasitológico de Lutz e sua relevância atual. Revista Brasileira de Análises Clínicas, v. 52, p.32-34. 2020.
9. Santos FS dos, Gama ASM, Fernandes ASM, Reis Junior JD dos D, Guimarães J. Prevalência de enteroparasitismo em crianças de comunidades ribeirinhas do Município de Coari, no médio Solimões, Amazonas, Brasil. Revista Pan-Amazônica de Saúde, v. 4, p.23-28. 2010.
10. Amor ANL, Oliveira VF. Estudo comparativo da associação entre a ocorrência de parasitos intestinais e diferentes variáveis clínicas e epidemiológicas em moradores da comunidade Ribeira I, Araci – BA, Brasil. Revista Brasileira de Análises Clínicas, n.49, p294-300. 03 de junho de 2015. Disponível em: http://www.rbac.org.br/artigos/estudo-comparativo-da-associacao-entre-ocorrencia-de-parasitos-intestinais-e-diferentes-variaveis-clinicas-e-epidemiologicas-em-moradores-da-comunidade-ribeira-i-araci-ba-brasil/. Acesso em: 10 out. 2021.
11. Borges WF, Marciano FM, Oliveira HB de. Parasitoses Intestinais: Elevada prevalência de G. lamblia em pacientes atendidos pelo serviço público de saúde da Região Sudeste de Goiás, Brasil. Revista da Universidade Federal de Goiás, v. 40, p. 149-157. abr.-jun. 2011. Disponível em: https://www.revistas.ufg.br/iptsp/article/view/14940/9293. Acesso em: 09 ago. 2021.
12. Bosqui LR, Pereira VL, Custódio LA et al. Strongyloides stercoralis and other intestinal parasites in human populations of northern Paraná region identified by using different parasitological methods. Revista Brasileira de Análises Clínicas, 2016. Disponível em: http://www.rbac.org.br/artigos/strongyloides-stercoralis-e-outros-parasitas-intestinais-na-populacao-humana-da-regiao-norte-do-parana-identificados-utilizando-diferentes-metodos-parasitologicos-48-n2/ . Acesso em: 06 nov. 2021.
13. Mendes NA, Silva ACC, Koppe EC, Filgueiras LA. Incidência de ascaridíase em comunidade quilombola de Cachoeiro de Itapemirim, Espírito Santo, Brasil. Boletim Informativo Geum, v. 7, n. 1, p. 28-33. mar. 2016. Disponível em: https://revistas.ufpi.br/index.php/geum/article/view/3004/2900. Acesso em: 09 ago. 2021.
14. Silva MMC da, Fernandes J de C, Fontes-Dantas FL. Incidência de Parasitoses Intestinais Diagnosticadas em Áreas carentes de uma Região Metropolitana. Revista Cultural e Científica do UNIFACEX, v. 15, p. 2237 -8685. 20 out. 2017. Diponível em: https://periodicos.unifacex.com.br/Revista/article/view/893/pdf. Acesso em: 09 ago. 2021.
15. Damazio SM, Lima MS, Soares AR, de Souza MAA. Intestinal parasites in a quilombola community of the northern state of Espírito Santo, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical, v.55, n.3, p.179-183, 2013.
16. Queiroz PRC, Motin AP, Verbaneck CA et al. Predominâncias e determinações sociais em ocorrências de parasitoses na região centro ocidental do Paraná: uma análise sócio-econômica do problema. Revista Saúde e Biologia, v.1, n.2, p.13-22, 2006.
17. Zielgelbauer K, Speich B, Mäusezahl D, Bos R, Keiser J, Utzinger J. Effect of Sanitation on Soil Transmitted Helminth Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. Plos Medicine, v.9, n.1, p.1-17, 2012.
18. Ziemer CJ, Bonner JM, Cole D, Vinjé J, Constantini V et al. Fate and transport of zoonotic, bacterial, viral, and parasitic pathogens during swine manure treatment, storage, and land application. Journal Animal Science, v.88, p.E84-E94, 2010.

Comparação dos interferentes nas metodologias de química líquida e química seca na fase pré-analítica dos exames laboratoriais

Comparison of interferences in liquid chemistry and dry chemistry methodologies in the pre-analytical phase of laboratory tests

Nicole Jara da Rosa Zanetti[1], *Jonas Michel Wolf*[1], *Allyne Cristina Grando*[1]

[1] Universidade Luterana do Brasil, Curso de Biomedicina. Canoas, RS, Brasil.

Resumo

As análises laboratoriais possuem diferentes fases até o laudo ser liberado. Uma delas é a fase pré-analítica, que consiste em todas as atividades que antecedem a análise do exame. Estudos indicam que aproximadamente 40% a 70% dos erros laboratoriais ocorrem nessa fase, e por isso é de extrema importância buscar metodologias mais sensíveis e específicas para se ter uma redução de erros. O objetivo deste estudo foi comparar os interferentes na fase pré-analítica dos exames laboratoriais pelas metodologias de química líquida e química seca. Foram utilizadas 23 bulas de diferentes testes, retiradas de plataformas *on-line* dos fabricantes Labtest e Ortho Clinical Diagnostics – VITROS. Ambos os fabricantes apresentaram interferentes nas metodologias, sendo as duas mais comuns hemólise e icterícia. Contudo, foi observado que a metodologia de química líquida apresenta mais interferentes do que a química seca, o que pode ocasionar um signigicativo número de repetições nas análises, desperdício de reagentes, entre outros fatores.

Palavras chave: fase pré-analítica; técnicas de laboratório clínico; reagentes de laboratório.

Abstract

Laboratory analyses have different phases until the report is released. One of them is the pre-analytical phase, which consists of all the activities preceding the analysis of the exam. Studies indicate that approximately 40% to 70% of laboratory errors occur in this phase, so it is extremely important to look for more sensitive and specific methodologies to have a reduction of errors. The objective of this study was to compare the interferences in the pre-analytical phase of laboratory tests by the methodologies of liquid chemistry and dry chemistry. Twenty-three classes of different tests taken from online platforms of Labtest and Ortho Clinical Diagnostics – VITROS were used. Both showed interferences in the methodologies, being the two most common hemolysis and jaundice. However, it was observed that the methodology of liquid chemistry presents more interferences than dry chemistry, which can cause a significant number of repetitions in the analysis, waste of reagents, among other factors.

Keywords: pre-analytical phase; clinical laboratory techniques; laboratory chemicals.

Correspondência
Allyne Cristina Grando
E-mail: allynegrando@gmail.com

Recebido em 07/02/2022 | Aprovado em 24/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200020

INTRODUÇÃO

O laboratório de análises clínicas exerce papel fundamental na área da saúde, sempre buscando propostas de melhorias no setor e auxiliando nas decisões terapêuticas e diagnósticas. Aproximadamente 70% dos diagnósticos clínicos são baseados em testes laboratoriais.[1] O laudo laboratorial é um documento que contém os resultados das análises, validados e autorizados pelo responsável técnico.[2]

O constante progresso tecnológico na área de análises clínicas tem possibilitado a ampliação do número e dos tipos de analitos passíveis de análise, aumentando, significativamente, a importância do laboratório na decisão médica e na tomada de condutas terapêuticas.[3] Nesse sentido, os resultados das análises laboratoriais são responsáveis por 65% a 75% das informações pertinentes à decisão médica.[4]

A análise laboratorial tende à obtenção de resultados compatíveis com a metodologia empregada. Porém, existem fatores que na maioria das vezes fogem do controle laboratorial, levando à obtenção de valores diferentes dos reais para uma determinada análise.[5] Com este intuito, os laboratórios empregam normas, programas e metodologias que ajudam a diminuir os erros e até mesmo evitá-los.[6]

Para a concepção dos principais erros dentro das análises clínicas, é necessário conhecer todas as etapas envolvidas do processo. As análises laboratoriais têm diferentes fases até o laudo ser liberado, e são classificadas como fase pré-analítica, fase analítica e fase pós-analítica.[7]

A fase pré-analítica consiste em todas as atividades que antecedem a análise do exame. Envolvem processos fundamentais que, se não forem realizados de acordo com os manuais, podem comprometer a exatidão dos resultados ou alterá-los. Diversos estudos mostram que alguns aspectos necessitam de maior atenção, como a identificação do paciente e informações relevantes como idade, sexo, raça, uso de medicamentos, exposição solar, hemólise, icterícia, lipemia, identificação dos tubos, o processo de coleta do material e o transporte das amostras. Esses estudos indicam que aproximadamente 40% a 70% dos erros ocorrem na fase pré-analítica.[1,3,8,9]

Daí ser de extrema importância empregar metodologias mais rigorosas para detecção, classificação e redução de erros.[3] Os problemas geralmente são provenientes da elevada rotatividade de funcionários, negligência, falta de entendimento sobre boas práticas em laboratório e treinamento ineficiente.[1,10]

A busca por padronização nas metodologias tende a ser mais exigente, mesmo que sejam usadas na mesma área com os mesmos fins diagnósticos. Para que se obtenha um resultado excelente de exame, o profissional das análises clínicas deve sempre buscar ampliar o seu conhecimento e a sua capacidade nas análises e nos métodos. A não adoção de processos preestabelecidos pode prejudicar a exatidão dos resultados ou até mesmo alterá-los. Deve-se ter um controle de qualidade que ajude a padronizar o sistema para que não ocirra influência nas metodologias adotadas nos exames bioquímicos. Caso contrário, o exame pode ter um custo desnecessário para o laboratório, visto poder ocorrer falsos positivos, não apresentando resultados bons e confiáveis.[7]

A química líquida é a uma metodologia que estima o nível de um analito em solução, uma vez que se baseia no princípio de que os materiais absorvem a luz de determinado comprimento de onda à medida que passa pela solução. Esse método é a espectrofotometria, que consiste em realizar a medição da cor em uma solução, determinando a quantidade de luz absorvida no espectro ultravioleta, infravermelho ou visível, sendo amplamente utilizada nos laboratórios de análises e pesquisas físicas, químicas, bioquímicas e farmacológicas, entre outros. A lei de Lambert-Beer afirma que a quantidade de luz de um determinado comprimento de onda absorvida por uma substância ao longo de uma distância constante (caminho da luz) é proporcional à concentração dessa substância. São infinitas as vantagens que contribuem para sua popularidade, uma delas é o fato de ser uma técnica espectroscópica quantitativa, com baixo custo operacional, de fácil utilização e que produz resultados de interpretação bastante simples.[11]

A química seca utilizada nos laboratórios demonstra uma moderna tecnologia disponível no mercado. A base da tecnologia bioquímica VITROS é o MicroSlide, que não necessita de água em qualquer uma das suas etapas, mostrando resultados satisfatórios com menor quantidade de amostra. É utilizado um pequeno *slide*, que contém seis camadas com reagentes sólidos, filtros, diferentes membranas, entre outras composições, que permite uma análise de mais de 60 parâmetros de bioquímica. Essa metodologia recebe o nome de reflectância, na qual ocorre uma análise laboratorial por meio de uma reação química da luz. No início do processo químico, ocorre uma reação padrão, em que automaticamente a luz incide diretamente no fundo do *slide* e é transformada em leitura de voltagem que gera o resultado da análise solicitada. Cada *slide* só pode ser usado uma única vez, pois não se necessita o uso de água na manipulação dos reagentes. Estes, por sua vez, já estão dispostos nas multicamadas, facilitando e agilizando todo o processo.[12]

Este estudo teve como objetivo comparar os interferentes nas metodologias de química líquida e química seca na fase pré-analítica dos exames laboratoriais.

METODOLOGIA

Foram pesquisadas em plataformas *on-line* 23 bulas retiradas dos sites dos dois fabricantes, Labtest (química líquida) e Ortho Clinical Diagnostics – VITROS (química seca). Os dados foram compilados e analisados através do *software* SPSS® (23.0 version, Chicago, IL Statistical Package for the Social Sciences). As avaliações de possíveis diferenças estatísticas entre a presença de interferentes nas metodologias de química seca e líquida foram verificadas pelo teste qui-quadrado de Pearson. Possíveis correlações entre os interferentes destas metodologias foram representadas pelo coeficiente de correlação de Pearson. Todas as análises foram bilaterais com nível de significância preestabelecido para o erro alfa de 5 ($p<0,05$). Todos os testes foram comparados para as duas metodologias, no que se refere a interferentes pré-analíticos.

RESULTADOS

As bulas dos 23 testes analisados e comparados entre as duas metodologias são: ácido úrico, albumina, alanina amino transferase (ALT), amilase, aspartato amino transferase (AST), bilirrubina, cálcio, creatinofosfoquinase e a sua fração (CK-MB), cloreto, colesterol HDL, colesterol total, creatinina, ferro, fósforo, gama glutamil transferase (GGT), glicose, lipase, magnésio, potássio, proteínas totais, sódio, triglicerídeos e ureia.

Na química líquida, observou-se o predomínio dos seguintes interferentes na grande maioria dos exames: ácido ascórbico (vitamina C), álcool, hemólise, icterícia, lipemia, medicamentos (variados), torniquete e troca de tubos, conforme Tabela 1. Na química seca, observou-se o predomínio dos seguintes interferentes: hemólise, fibrina, icterícia, medicamentos (variados) e a troca de tubos, conforme Tabela 2.

Tabela 1

Comparação dos interferentes na Química Líquida

aNALITO	INTERFERENTES DOS EXAMES
Ácido úrico[13]	Ácido ascórbico (Vitamina C), álcool, aumento do peso corporal, jejum prolongado, icterícia, hemólise e estresse.
aLBUMINA[14]	Pacientes obesos ou depressivos, o valor tende a ser mais baixo; torniquete com heparina de lítio e oxalato de potássio combinado com fluoreto de sódio fornecem resultados falsamente diminuídos. Icterícia e hemólise
Alanina Amino TraNsferase (ALT/TGP)[15]	Anabolizantes, esteroides, cloranfenicol, clorotiazida, aspirinas e gentamicinas. Exercícios em excesso também são interferentes.
AMILASE[16]	Álcool, analgésicos análogos, hemólise, diuréticos, Tiazídicos e medicamentos colinérgicos. Narcóticos (morfina).
Aspartato Amino Transferase (AST/TGO)[17]	Álcool, anabolizantes, esteroides, cloranfenicol, clorotiazida, aspirinas, gentamicinas e hemólise. Exposição à luz solar direta, icterícia e lipemia.
BILIRRUBINA[18]	Exposição à luz solar, hemólise, lipemia. Valores de hemoglobina entre 30mg/dL e 180mg/dL produzem resultados falsamente elevados na determinação da bilirrubina total e falsamente diminuídos na determinação da bilirrubina direta.
CÁLCIO[19]	Álcool, alterações circadianas, exercício físico, gravidez, icterícia e hemólise. plasmas, citratados, oxalatados, fluoretados ou com EDTA fornecem resultados falsamente diminuídos.
CK-MB[20]	Exposição à luz solar, grandes cirurgias cardíacas e hemólise.
CLORETO[21]	Hemólise.
COLESTEROL HDL[22]	Álcool, bloqueadores beta-adrenérgicos, estrógenos, hemólise, pílulas contraceptivas, tiazídicos e torniquete.
colesterol total[23]	Ácido ascórbico (Vitamina C), álcool, postura corporal, hemólise, icterícia e torniquete.
creatinina[24]	Ácido ascórbico (Vitamina C), aspirina, ácido úrico, frutose, guanidina, hidantoína, ácido ascórbico, várias cefalosporinas, particularmente cefoxitina. Pode interferir também, alterações circadianas, dieta vegetariana e lipemia. Triglicérides acima de 250mg/dL produzem resultados falsamente elevados.
ferro[25]	Alterações circadianas, icterícia, idade, sexo, período de gestação, uso de contraceptivos orais e estrogênio alteram as concentrações de ferro. Triglicerídeos acima de 900mg/dL produzem resultados falsamente elevados.
fósforo[26]	Amostras com valores de Triglicérides entre 170mg/dL e 3500mg/dL produzem resultados falsamente elevados por interferência fotométrica. Hemólise, icterícia podem mostrar interferentes. Plasmas citratados, oxalados, fluoretados ou com EDTA produzem resultados falsamente diminuídos.

Tabela 1 - continuação

aNALITO	INTERFERENTES DOS EXAMES
gama-glutamil transferase[27]	Álcool, anticoagulantes contendo citrato, fluoreto ou oxalato inibem a atividade, diabéticos. Uso dos medicamentos fenitoína, fenorbarbital. Grávidas na fase inicial (pode ter a atividade enzimática 25% menor), hemólise e heparina.
glicose[28]	Ácido ascórbico, corticoides, tiazídicos e diuréticos. Icterícia, jejum prolongado, hemólise, obesos e lipemia.
lipase[29]	Hemólise, icterícia, lipemia. plasmas, citratados, oxalatados, fluoretados ou com EDTA fornecem resultados falsamente diminuídos.
magnésio[30]	Hemólise, icterícia e triglicerídeos entre 250mg/dL e 3500mg/dL produzem interferências positivas.
potássio[31]	Hemólise e icterícia
PROTEÍNAS TOTAIS[32]	Concentrações de triglicerídeos entre 500mg/dL e 1100mg/dL produzem interferências positivas. Exercícios físicos, hemólise e lipemia podem mostrar interferentes. Na gestação, devido ao aumento do líquido intravascular, a proteína total diminui significativamente, podendo apresentar redução de até 14%. Nas amostras coletadas durante a manhã, as concentrações das proteínas são 3% maiores que em amostras coletadas no período da tarde. Postura corporal e torniquete.
SÓDIO[33]	Ácido ascórbico (Vitamina C) e hemólise.
TRIGLICERÍDEOS[34]	Ácido ascórbico (Vitamina C), álcool, alimentação, amostras colhidas com heparina, dietéticos recentes, exercício físico, exposição à luz solar, icterícia, hemólise, postura corporal, torniquete e variações de peso.
UREIA[35]	Alimentação aumenta os níveis de ureia no soro ou plasma, principalmente mulheres. Contaminação da água, vidraria e ambiente com amônia podem produzir resultados falsamente elevados. Deve-se evitar fumar próximo ao local das dosagens. Em gestantes, os níveis de ureia diminuem consideravelmente. Exercícios físicos, idade, alterações circadianas, icterícia e hemólise.

Fonte: Autoral

Tabela 2

Comparação dos interferentes na Química Seca

analito	INTERFERENTES DOS EXAMES
ÁCIDO ÚRICO[36]	Hemólise e não alcalinize amostras durante a coleta.
ALBUMINA[37]	As concentrações de albumina variam com a postura. Os resultados obtidos de um doente de pé podem indicar uma média 9% superior aos obtidos de um doente deitado. Hemólise.
Alanina Amino Transferas e (ALT/TGP) [38]	Hemólise.
amilase[39]	Plasmas, citratados, oxalatados, fluoretados ou com EDTA fornecem resultados falsamente diminuídos.
Aspartato Amino transferase (AST/TGO)[40]	Elevados níveis de piruvato desencadearão os indicadores de TR ou DP. Medicamentos como N-acetilcisteína e tolazamida podem dar interferentes.
bilirrubina[41]	Medicamentos que interferem: Anfotericina B, biliverdina, fenazopiridina, levodopa, metotrexato, nitrofurantoína, piroxicam, sulfasalazina, triantereno. Exposição à luz solar e hemólise
cálcio[42]	Manter a amostra num recipiente aberto à temperatura ambiente pode provocar um aumento do valor da concentração de cálcio reportada de até 0,4mg/dL (0,1mmol/L). O sangue colhido com estase pode apresentar concentrações de cálcio 15% superiores. plasmas, citratados, oxalatados, fluoretados ou com EDTA fornecem resultados falsamente diminuídos. Sangue de doentes aos quais foi administrado o meio de contraste radiográfico 2 Hypaque não pode ser utilizado.
ck-mb[43]	Atividade física, raça e hemólise.
cloreto[44]	Hemólise, não recolher sangue de um braço que esteja a receber uma transfusão intravenosa e fibrina.
colesterol hdl[45]	Plasmas, citratados, oxalatados, fluoretados ou com EDTA fornecem resultados falsamente diminuídos.
colesterol total[46]	Medicamentos que interferem: Ácido gentísico e nacetilcisteína. Plasmas, citratados, oxalatados, fluoretados ou com EDTA fornecem resultados falsamente diminuídos.
creatinina[47]	Dipirona (metamizol), etamsilato, N-etilglicina e tolazamida. Não proceda à coleta de amostras de linhas de fluido intravenoso contaminadas com fluido de hiperalimentação. Hemólise.
ferro[48]	O Desferal (Mesilato de Deferoxamina) a uma concentração de 250mg/dL ou superior resulta em concentrações de ferro inferiores ao intervalo de referência do sistema. O Imferon (Dextrano ferroso) produz um desvio dos valores de ferro de 5µg/dL por cada 100µg/dL de Imferon. Hemólise.

Tabela 2 - continuação

analito	INTERFERENTES DOS EXAMES
fósforo[49]	Hemólise e plasmas, citratados, oxalatados, fluoretados ou com EDTA fornecem resultados falsamente diminuído.
gama-glutamil transferase[50]	Hemólise e icterícia.
glicose[51]	Fibrina, hemólise e lipemia.
lipase[52]	5-Aminossalicilato, hemólise e lipemia
magnésio[53]	Hemólise e plasmas, citratados, oxalatados, fluoretados ou com 3 EDTA fornecem resultados falsamente diminuídos.
potássio[54]	Fibrina, hemólise. Não colha uma amostra do braço de uma pessoa a quem está a ser administrada uma transfusão intravenosa. Plasmas, citratados, oxalatados, fluoretados ou com EDTA fornecem resultados falsamente diminuídos.
proteínas totais[55]	Medicamentos que interferem: Ceftriaxona, Dextrano 40, Intralípido e Sulfassalazina. Hemólise e postura corporal.
sódio[56]	Fibrina e hemólise.
triglicerídeos[57]	Medicamentos que interferem: Etansilato, hidroxiureia, L-dopa, N-acetilcisteína. Plasma e EDTA fornecem resultados falsamente diminuídos.
ureia[58]	Fluoreto de sódio (o fluoreto inibe a enzima urease). Os íons de amônio podem provocar um amumento no valor da Ureia equivalente ao teor de nitrogênio na amostra. Hemoglobina superior a 50mg/dL.

Fonte: Autoral

Não houve associação estatística entre os resultados de interferência da presença de hemólise nos analitos avaliados entre as metodologias empregadas (p=0,99). Porém, é digno de nota que sete analitos (amilase, AST, cálcio, HDL, colesterol total, triglicerídeos e ureia) com interferência estavam presentes apenas na química líquida, e um (ferro) na química seca, conforme demonstrado na Tabela 3.

A análise de correlação entre as metodologias não apresentou significância estatística (R2 = -0,14; p=0,52). A presença de icterícia foi identificada em 14 analitos na química líquida (ácido úrico, albumina, AST, cálcio, colesterol total, creatinina, ferro, fósforo, glicose, lipase, magnésio, potássio, triglicerídeos e ureia), os quais foram negativos para química seca, e apenas um analito apresentou interferência de icterícia apenas na química seca (GGT). Todavia, não houve associação estatística entre a presença de interferência de icterícia nas metodologias estudadas (p=0,06). Nota-se, por outro lado, uma tendência de associação, representada por um valor de p próximo de 0,05 (Tabela 4). Este aspecto é reforçado pela correlação negativa entre as metodologias (R2 = -1,00; p<0,01).

Tabela 3

Associação entre os resultados de interferência de hemólise nas metodologias de química seca e líquida

Química Líquida		Química seca		Total	valor de p
		Positivo	Negativo		
Positivo	n	15	7	22	
	%	93,8	100,0	95,7	
Negativo	n	1	0	1	0,99
	%	6,3	0,0	4,3	
Total	n	16	7	23	
	%	100,0	100,0	100,0	

Fonte: Autoral

Tabela 4

Associação entre os resultados de interferência de icterícia nas metodologias de química seca e líquida

Química Líquida		Química seca		Total	valor de p
		Positivo	Negativo		
Positivo	n	0	14	14	
	%	0,0	100,0	93,3	
Negativo	n	1	0	1	0,06
	%	100,0	0,0	6,7	
Total	n	1	14	15	
	%	100,0	100,0	100,0	

Fonte: Autoral

DISCUSSÃO

Entende-se que os erros estão presentes na rotina laboratorial, podendo comprometer o resultado do exame. A ocorrência de erros pode ser por falhas ao realizar uma ação planejada, seja ela intencional ou não, ou por aplicação incorreta de um procedimento.[59] Segundo um estudo de Lima-Oliveira,[10] embora reconhecida como elemento de importância central, a fase pré-analítica carece de indicadores específicos dentro do sistema de gestão da qualidade nos laboratórios clínicos, fato que a torna vulnerável para o aparecimento e a proliferação de erros. Esta constatação caracteriza o lado obscuro dos problemas associados à qualidade laboratorial.[10]

É fundamental que, para obtenção da qualidade de exames laboratoriais, as ações e os agentes se concentrem em esquemas planejados, que seriam o sistema de qualidade, controle de qualidade e garantia de qualidade. O objetivo dos trabalhadores da área da saúde deve ser garantir a qualidade nos cuidados ao paciente.[3] Portanto, deve-se ter um desenvolvimento de metodologias eficazes para ajudar no dia a dia da rotina laboratorial, como as de química líquida e a de química seca.[60]

Na metodologia de química líquida, os principais interferentes são o ácido ascórbico (Vitamina C), álcool, hemólise, icterícia, lipemia, torniquete aplicado de forma inapropriada e variados fármacos. Esta metodologia é mais comum em laboratórios de pequeno e médio porte, por ter um custo mais acessível, porém existem contrapartidas com a demora na análise, baixa estabilidade, gerando uma frequência em manutenções e calibrações por sua baixa sensibilidade quando comparada com o outro método estudado.

Já a metodologia de química seca, por sua vez, apresenta os seguintes interferentes: hemólise, fibrina, icterícia e variados fármacos. Este método é usado em laboratórios hospitalares e empresas com grandes demandas devido ao seu alto custo, porém apresenta uma maior confiabilidade, estabilidade, sensibilidade, não necessitando de muitas manutenções e calibrações, sendo uma metodologia mais rápida e estável.[13,58]

Das 23 bulas analisadas, na metodologia da química líquida foram identificados 22 exames com interferentes de hemólise e 14 exames com interferentes de icterícia, sendo estes grandes responsáveis pela maioria dos problemas nesta metodologia. Na metodologia de química seca, foram detectados 16 exames com interferentes de hemólise e apenas um exame de icterícia. Portando, foi possível identificar esses dois importantes interferentes mais comuns entre as duas metodologias analisadas. Porém, devem ser considerados todos os interferentes encontrados nas bulas, pois podem prejudicar de alguma forma as análises dos exames bioquímicos.

Demonstrou-se nas bulas analisadas que houve mais interferentes na fase pré-analítica na metodologia da química líquida, tendo destaque para a hemólise e icterícia, interferindo mais nessa análise do que na de química seca pelo fato de quantificar a absorbância por espectrofotometria. Como a metodologia de química seca utiliza *slides* que contêm camadas que filtram os interferentes de alto peso molecular (proteína, lipídios e hemoglobinas), tais bulas analisadas apresentaram uma porcentagem mínima de interferentes.[11]

A hemólise é o rompimento da membrana da hemácia, causando a liberação da hemoglobina e outros componentes internos no líquido circundante, podendo ser originada *in vivo* e/ou *in vitro*. Enquanto a hemólise *in vivo* sugere uma

condição clínicopatológica, a *in vitro* demonstra erros que acontecem na fase pré-analítica, como: procedimento de coleta inadequado (tempo prolongado do torniquete ou transferir o sangue da seringa para o tubo sem remover a agulha), processamento da amostra, transporte ou armazenamento da amostra incorreto.[61]

Conforme Bastos et al.,[61] a hemólise pode interferir na análise bioquímica por diferentes maneiras. Primeiro, a hemoglobina livre apresenta absortividade alta em comprimentos de onda variando entre 415 e 570 nanômetros. Dessa forma, a hemoglobina provoca uma elevação aparente na concentração dos analitos medidos nestas escalas de comprimento de onda, por elevar a absorbância das amostras. Além da hemoglobina, as hemácias contêm várias proteínas estruturais, enzimas, lipídios e carboidratos. Muitos destes podem também interagir ou competir com os reagentes de ensaio, ou elevar a quantidade do analito dosado no plasma ou soro.[61]

Para Dimenski,[62] a interferência da icterícia faz com que se tenha um aumento dos níveis de bilirrubina, que é produzida pelo organismo quando os glóbulos vermelhos se desintegram. Quando a sua excreção não acontece de forma adequada, ocorre um aumento de sua concentração no sangue, acarretando o surgimento da icterícia. O soro ou o plasma ficam com a cor de um amarelo brilhante, indicando a presença elevada de bilirrubina.[62]

Diversos fármacos também se mostraram como interferentes nas duas metodologias. Segundo um estudo, publicado em 2008, realizado na Austrália pelo Departamento de Patologia Química do Hospital Princess Alexandra, a interferência de medicamentos pode ser química, quando o medicamento parental, metabólitos ou os aditivos dele apresentam uma reação cruzada, podendo atuar como aceleradores ou inibidores da análise, ou pode interferir na reação fotométrica, quando o medicamento parental, metabólitos ou os aditivos têm picos de absorção semelhantes aos do cromógeno medido.[62] Tais interferências atrapalham as metodologias, podendo não se alcançar os resultados corretos no momento da análise.

Em relação à coleta da amostra, tanto na metodologia de química liquida quanto na de química seca, se for realizada em plasmas, citratados, oxalatados, fluoretados ou com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), fornecem-se resultados falsamente diminuídos, tendo exames com alterações incorretas. Por isso a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), Organização Mundial da Saúde (OMS) e Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) enfatizam que, para assegurar a boa qualidade e evitar contaminação das amostras por metais ou anticoagulantes presentes, sugere-se uma ordem específica para coleta em tubos a vácuo, sendo: citrato de sódio (azul-claro), soro com ou sem ativador de coágulo (vermelho), heparina (verde), EDTA (roxo) e oxalato/fluoreto (cinza).[63]

Nas metodologias de química líquida e de química seca analisadas, foram observados diversos interferentes que podem ocasionar a redução da qualidade dos resultados. Esses erros laboratoriais podem gerar uma rejeição da amostra e posterior recoleta do espécime diagnóstico. Além de gerar dano ao paciente, esses erros trazem insatisfação, ansiedade, transtornos e insegurança ao médico e ao paciente. Para o laboratório, os erros geram custos desnecessários, demora na liberação do laudo, maior trabalho envolvido e ainda, o mais importante, a perda de credibilidade, da confiança e da segurança.[64]

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Existem diversos interferentes que podem ocasionar a redução da qualidade dos resultados, principalmente na fase pré-analítica que está mais suscetível a erros de processo por ser uma etapa mais manual. Foi observado que a maioria dos interferentes que ocorrem nessa fase podem influenciar mais na metodologia de química líquida, o que pode ocasionar um significativo número de repetições nas análises, desperdício de reagentes, maior número de recoletas e/ou erros nos resultados dos exames.

A metodologia de química seca apresenta menores índices de interferentes, o que confirma maior economia aos laboratórios, maior precisão nos resultados, menor margem de erro e menor índice de repetição de exames, resultando em uma redução significativa do tempo de análise. Ainda, a química seca apresenta maior confiabilidade, estabilidade, sensibilidade, não necessitando de muitas manutenções e calibrações, sendo uma metodologia mais rápida e estável, garantindo resultados fidedignos.

REFERÊNCIAS

1. Guimarães AC, Wolfart M, Brisolara MLL, Dani C. O laboratório clínico e os erros pré-analíticos. Revista HCPA. 2011; 31(1):66-72.
2. Brasil. RDC n. 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. Diário Oficial da União. 14 out. 2005.

3. Vieira KF, Shitara ES, Mendes ME, Sumita NM. A utilidade dos indicadores da qualidade no gerenciamento de laboratórios clínicos. J Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial [revista em Internet] 2011 Jun. [acesso 19 de maio de 2020]; 47(3):201–210. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S167624442011000300002&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.
4. Westgarg JO, Darcy T. The truth about quality: medical usefulness and analytical reliability of laboratory tests. Clinica Chimica Acta. 2004; 346(1): 3-11.
5. Moura RA. Técnicas de Laboratório. 3. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2001.
6. Costa VG, Moreli ML. Principais parâmetros biológicos avaliados em erros na fase pré-analítica de laboratórios clínicos: revisão sistemática. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. 2012; 48(3):163-168.
7. Rin G. Pre-analytical workstations as a tool for reducing laboratory errors. Journal of Medical Biochemistry. 2010; 29(4):315-324.
8. Plebani M, Carraro P. Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. Clinical chemistry. 1997; 43(8):1348-1351.
9. Guimarães AC et al. Causes of rejection of blood samples handled in the clinical laboratory of a University Hospital in Porto Alegre. Clinical Biochemistry. 2012; 45(1- 2):123-126.
10. Lima-Oliveira GS et al. Controle da qualidade na coleta do espécime diagnóstico sanguíneo: iluminando uma fase escura de erros pré-analíticos. J Bras Patol Med Lab. 2009; 45(6):441-447.
11. The University of Queensland [homepage na internet]. Spectrophotometry. 2017. [acesso em 30 set 2018]. Disponível em: <https://di.uq.edu.au/community-and- alumni/sparq-ed/sparq-ed-services/spectrophotometry>.
12. Ávila NT, Abel MNC. Estudo comparativo das metodologias colorimétrica convencional e química seca na Determinação de Analitos Bioquímicos. Laes & Haes. 2010; 31(183):100-106.
13. Ácido Úrico. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2014. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/%C3%81cido_%C3%9Arico_Liquiform_140_Port.pdf>.
14. Albumina. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2013. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/ Albumina_19_Port.pdf>.
15. Alanina Amino Transferase. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2013. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/ALT_GPT_Liquiform_108_Port.pdf>.
16. Amilase. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2014. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/ Amilase_11_Port.pdf>.
17. Aspartato Amino Transferase. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2014. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp- content/uploads/2016/09/AST_GOT_Liquiform_109_Port.pdf>.
18. Bilirrubina. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2014. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/ Bilirrubina_31_Port.pdf>.
19. Cálcio. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2014. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/C%C3%.A1lcio_Liquiform_90_Port.pdf>.
20. CK-MB. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2011. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/.CK_MB_Liquiform_118_Port.pdf>.
21. Cloretos. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2011. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/ Ref_115_RevAbril2011_Ref040618_Port.pdf>.
22. Colesterol HDL. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2014. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/ Colesterol_HDL_13_Port.pdf>.
23. Colesterol Total. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2000. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/ Ref_76_EdicMar%C3%A7o2000_RevAbr2019_Ref010719_Port.pdf>.
24. Creatinina. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2009. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/ Creatinina_35_Port.pdf>.
25. Ferro sérico. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2014. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/ Ferro_S%C3%A9rico_38_Port.pdf>.
26. Fósforo. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2013. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/ F%C3%B3sforo_42_Port.pdf>.
27. Gama Glutamil Transferase. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2013. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp- content/uploads/2016/09/Gama_GT_Liquiform_105_Port.pdf>.
28. Glicose. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2011. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/ Ref_133_Edi%C3%A7%C3%A3oDezembro2011_Ref01072019_Port.pdf>.
29. Lipase. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2014. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/ Lipase_Liquiform_107_Port.pdf.>
30. Magnésio. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2008. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/ Magn%C3%A9sio_50_Port.pdf>.
31. Potássio. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2018. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2019/09/Ref_152_ EdcJaneiro2018_Ref230119_Port.pdf>.
32. Proteínas Totais. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2014. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/Prote%C3%ADnas_Totais_99_Port.pdf>.
33. Sódio Enzimático. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2017. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2019/08/Ref_151_EdiMar %C3% A7o2017_Ref271016_Port.pdf>.
34. Triglicérides. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 2000. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp- content/uploads/2016/09/Ref_87_EdicMar%C3%A7o2000_RevAbril2019_Ref020320_Port.pdf>.
35. Ureia UV. [bula]. Minas Gerais: Labtest Diagnóstica S.A. 1994. [acesso em 05 Março 2020]. Disponível em: <https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/Ref_104_Ed%C3%A7Julho1994_RevMar%C3%A7o2013_Ref190619_Port.pdf>.
36. Ácido Úrico. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=URIC_MP2-11_PT_I_15.pdf&p=1.>
37. Albumina. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=ALB_MP2-17_PT_I_10.pdf&p=1.>
38. Alanina Amino Transferase. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=ALT_MP2-36_PT_I_11.pdf&p=1>.
39. Amilase. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=AMYL_MP2-16_PT_I_12.pdf&p=1>.
40. Aspartato Amino Transferase. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=AST_MP2-113_PT_I_13.pdf&p=1>.

41. Bilirrubina Total. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=TBIL_MP2-39_PT_I_12.pdf&p=1>.
42. Cálcio. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=Ca_MP2-10_PT_I_15.pdf&p=1>.
43. CK-MB. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=CKMB_MP2-48_PT_I_12.pdf&p=1>.
44. Cloreto. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=CI_J56114_PT_I_4_1.pdf&p=1>.
45. Colesterol HDL. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=dHDL_J40113_PT_I_7.pdf&p=1>.
46. Colesterol Total. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=CHOL_MP2-35_PT_I_12.pdf&p=1>.
47. Creatinina. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=CREA_J27323_PT_I_13.pdf&p=1>.
48. Ferro. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=Fe_C-211A_PT_I_11.pdf&p=1.>
49. Fósforo. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=PHOS_MP2-45_PT_I_12.pdf&p=1>.
50. Gama Glutamil Transferase. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=GGT_MP2-43_PT_I_11.pdf&p=1>.
51. Glicose. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=GLU_MP2-8_PT_I_15.pdf&p=1>.
52. Lipase. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=LIPA_MP2-72_PT_I_13.pdf&p=1>.
53. Magnésio. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=Mg_MP2-47_PT_I_12.pdf&p=1>.
54. Potássio. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=K_J32746_PT_I_9.pdf&p=1>.
55. Proteínas Totais. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=ALB-TP_J65402_PT_XT_2.pdf&p=1>.
56. Sódio. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=Na_J32747_PT_I_8.pdf&p=1>.
57. Triglicéridos. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=TRIG_J40115_PT_I_6.pdf&p=1>.
58. Ureia. [bula]. New York: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2019. [acesso em 14 Abril 2020]. Disponível em: <https://techdocs.orthoclinicaldiagnostics.com/IFU/ IntlDetailPage.aspx?hidebanner=Y&cPath=UREA-CREA_J65403_PT_XT_3.pdf&p=1.
59. Shcolnik W. Erros laboratoriais e segurança dos pacientes: revisão sistemática. Rio de Janeiro: Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica, 2012. Dissertação de Mestrado em Ciências na área de Saúde Pública.
60. Portal Saúde Business [homepage na internet]. Apresenta uma tecnologia para análise clínica. 2014 março. [acesso em 30 set 2018]. Disponível em: <https://saudebusiness.com/noticias/johnson-johnson-apresenta-tecnologia-para- analise-clinica>.
61. Bastos MS, Berner AP, Ramos ERP. Avaliação do grau de hemólise e sua interferência em análises bioquímicas de amostras obtidas por diferentes técnicas de coletas de sangue venoso. V Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica, 2010. ISBN 978-85-61091-69-9.
62. Dimenski G. Interference Testing. Clin Biochem Rev. 2008; 29(Suppl 1): S43-S48. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2556582/>.
63. Abdalla DR, Resende Santos IC, Fedrigo RFA, Olegário PJG, Siqueira BPF, Farjado FE. Avaliação do conhecimento de estudantes e profissionais da Saúde sobre a fase pré-analítica de amostras hematológicas. JCBS. 2016; 2(2):52-56.
64. Stankovic AK. The laboratory is a key partner in assuring patient safety. Clin Lab Med. 2004; 24(4):1023-35.

Avaliação do perfil lipídico em gestantes acompanhadas na rede pública de saúde em um município do estado de Minas Gerais

Lipid profile assessment in pregnant women followed in the public health network in a municipality of in Minas Gerais State

Laudicéia Ferreira Frois[1], Adriany Aparecida Roquini Lima[1], Lucas Giarolla Gonçalves de Mattos[2], Maysa Helena de Aguiar Toloni[1], Lilian Gonçalves Teixeira[1]

[1] Universidade Federal de Lavras, Departamento de Nutrição. Lavras, MG, Brasil.

[2] Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências da Saúde. Lavras, MG, Brasil.

Resumo

O estudo teve como objetivo avaliar a associação de fatores sociodemográficos e nutricionais ao perfil lipídico de gestantes atendidas pelo setor público de saúde de Lavras – Minas Gerais. Estudo transversal, realizado com gestantes atendidas no pré-natal em Estratégias de Saúde da Família (ESF), Ambulatório Médico de Especialidades (AME) e no Centro Estadual de Atenção Especializada (CEAE). Os dados do perfil lipídico foram obtidos por meio de exames bioquímicos e a prevalência de dislipidemia foi realizada considerando-se a média dos resultados apresentados pelas participantes. Dados sociodemográficos foram coletados utilizando questionário padronizado e a insegurança alimentar foi avaliada pela Escala Brasileira de Insegurança Alimentar (EBIA). Com relação à situação de segurança alimentar, 35,8% (n=24) apresentaram algum grau de insegurança alimentar, sendo que 9,0% (n=6) apresentavam-se em situação moderada de insegurança alimentar e 10,4% (n=7), grave. Avaliando a associação do perfil lipídico com fatores sociodemográficos e nutricionais, foi possível identificar significância para a fração de triglicerídeos, quando associada às condições: não ser beneficiária do Programa Bolsa Família (PBF), déficit e excesso de peso e idade inferior a 20 anos. A prevalência de dislipidemia avaliada pelo critério da V Diretriz Brasileira de Dislipidemia para adultos foi maior do que a prevalência identificada pelo critério dos percentis específicos da gestação.

Palavras-chave: lipídios; gravidez; antropometria.

Abstract

The study aimed to evaluate the association of sociodemographic and nutritional factors with the lipid profile of pregnant women assisted by the public health sector of Lavras – Minas Gerais. Cross-sectional study, carried out with pregnant women assisted in prenatal care in Family Health Strategies (ESFs), Specialties Medical Clinic (AME) and at the State Center for Specialized Care (CEAE). Lipid profile data were obtained through biochemical tests and the prevalence of dyslipidemia was performed considering the average of the results presented by the participants. Sociodemographic data were collected using a standardized questionnaire for the studied population and food insecurity was assessed using the Brazilian Food Insecurity Scale (EBIA). Regarding the food security situation, 35.8% (n=24) had some degree of food insecurity, with 9.0% (n=6) presenting themselves in a moderate situation of food insecurity and 10.4% (n =7) serious. The association of the lipid profile with sociodemographic and nutritional factors, it was possible to identify significance for the fraction of triglycerides, when associated with the conditions: not being a beneficiary of the PBF, underweight and overweight and under 20 years of age. The prevalence of dyslipidemia assessed by the criterion of the V Brazilian Guidelines on Dyslipidemia for adults was higher than the prevalence identified by the criterion of pregnancy-specific percentiles.

Keywords: lipids; pregnancy; anthropometry.

Correspondência
Laudicéia Ferreira Frois
E-mail: laudixeiafrois@hotmail.com

Recebido em 05/04/2022 | Aprovado em 19/05/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200036

INTRODUÇÃO

Durante a gestação, ocorrem alterações no perfil lipídico para assegurar o suprimento contínuo de nutrientes ao feto em crescimento,[1] cujo remodelamento é proveniente de alterações genéticas, energéticas e hormonais.[2]

Toda gestante tem direito a um pré-natal de qualidade e que promova melhores condições de vida e nutrição para a mãe e para o bebê.[3] No Brasil, as gestantes que são acompanhadas pelo Sistema Único de Saúde (SUS) têm direito a uma assistência pré-natal que representa um conjunto de cuidados e procedimentos que almejam preservar a saúde da gestante e do concepto, assegurando a profilaxia e a detecção precoce das complicações próprias da gestação e o tratamento adequado de doenças maternas preexistentes.[3,4]

A atenção nutricional é parte importante deste protocolo da assistência pré-natal, essencialmente em razão do período de intenso crescimento e desenvolvimento da mãe e do feto, com elevadas necessidades nutricionais decorrentes de ajustes fisiológicos.[5] A atenção à alimentação no pré-natal pode ser considerada uma das mais importantes metas em termos de saúde pública devido à possibilidade de redução dos determinantes da morbimortalidade neonatal.[5,6]

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), principalmente cânceres, doenças cardiovasculares, diabetes e doenças respiratórias crônicas, ocupam destaque nas estatísticas de saúde, sendo responsáveis pelas maiores taxas de morbimortalidade no Brasil.[7] Essas doenças também apresentam alta prevalência entre as mulheres em todo o mundo e o impacto das DCNT nas gestantes apresenta duplo efeito, uma vez que pode ocasionar morte prematura do binômio e incapacidade entre as mulheres, independente do estrato socioeconômico.[8]

As dislipidemias podem ser categorizadas em hiperlipidemias (níveis elevados de lipídios sanguíneos) e hipolipidemias (níveis plasmáticos reduzidos de lipoproteínas).[9,10] As modificações podem incluir elevação dos níveis plasmáticos de colesterol total (CT), triglicerídeos (TG) e lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), associada ou não com diminuição dos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL-c).[11] Assim como as DCNT, os distúrbios dislipidêmicos são multifatoriais e, entre eles, destacam-se os distúrbios genéticos, medicamento, condições mórbidas e estilo de vida inadequado, dentre os quais a alimentação.[12]

Nesse contexto, é imprescindível o rastreio de distúrbios metabólicos no período gestacional. Sabe-se que a gestação provoca aumento fisiológico dos lipídios sanguíneos em razão das alterações hormonais durante os trimestres de gestação,[13] e o diagnóstico quando realizado pela referência da Sociedade Brasileira de Cardiologia pode ser errôneo, haja vista que essa atende a população geral.

Padrões dietéticos variados são capazes de modular diferentes aspectos do processo aterosclerótico, riscos cardiovasculares e níveis lipídicos. O consumo de gorduras saturadas e *trans*, encontradas principalmente em produtos ultraprocessados, está diretamente associado à elevação de LDL-c plasmático e aumento do risco cardiovascular.[14] Ademais, deve-se ressaltar que o consumo de carboidratos refinados tem importante função na gênese da doença cardiovascular, possibilitando o estabelecimento da hipercolesterolemia. Assim, já não existem dúvidas de que o consumo excessivo de ultraprocessados configura-se risco patológico potencial para o binômio materno-fetal.[15]

Embora o período gestacional apresente potencial para distúrbios dislipidêmicos, a avaliação do perfil lipídico não faz parte dos exames de rotina obstétricos no Sistema Único de Saúde (SUS), dificultando assim o seu rastreamento.[16] Desse modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar a associação de fatores sociodemográficos e nutricionais ao perfil lipídico para gestantes.

MÉTODOS

Estudo transversal com abordagem quantitativa. Participaram da pesquisa 67 gestantes atendidas nas Estratégias de Saúde da Família (ESF), no Ambulatório Médico de Especialidades (AME) e no Centro Estadual de Atenção Especializada (CEAE) no município de Lavras – Minas Gerais, que concordaram com o proposto no Termo de Consentimento Livre e Esclarecidas (TCLE) durante o período de abril a dezembro de 2018.

Para seleção da amostra, foram agrupadas aquelas cadastradas nas unidades de saúde, sendo a partir de então realizada uma busca ativa a essas gestantes. A seleção da amostra foi por conveniência. As características demográficas foram coletadas no dia do atendimento das consultas de pré-natal. Finalizada essa etapa, realizou-se a coleta de dados antropométricos (peso e altura) e o agendamento para a coleta de sangue no laboratório. A idade gestacional (IG) em semanas, no momento da coleta de sangue, foi calculada a partir da data da última menstruação (DUM) presente na caderneta da gestante.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (COEP) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) (CAAE nº 74972517.0.0000.5148; Parecer nº 2.984.379).

Dados sociodemográficos e obstétricos foram coletados: idade, trimestre gestacional, cor da pele referida, estado civil, renda familiar mensal; nível de escolaridade; recebimento de benefício do governo.

As aferições antropométricas foram obtidas seguindo os Protocolos do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional (SISVAN). Após a coleta desses dados, era realizado o cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC) gestacional da colaboradora, sendo seu diagnóstico antropométrico estabelecido de acordo com a referência proposta por Atalah (1999) adotada pelo Ministério da Saúde e o Protocolo do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional 2011.[17]

A insegurança alimentar foi avaliada pela Escala Brasileira de Insegurança Alimentar (EBIA), instrumento validado e adaptado para a população brasileira. A utilização da EBIA permite considerar o contexto social do país e realiza o diagnóstico direto de segurança alimentar ou insegurança alimentar em residências familiares. A estrutura da escala utilizada inclui 14 questões, que compreendem agrupamentos conceituais que permitem estimar a prevalência da segurança alimentar e classificar as residências em quatro níveis: segurança alimentar e insegurança alimentar leve, moderada e grave.[18]

As amostras de sangue foram coletadas após jejum de 12 horas e analisadas no laboratório de análises clínicas credenciado à prefeitura do município. As concentrações plasmáticas do colesterol total, triglicerídeos, HDLc e LDLc foram mensuradas pelo método enzimático-colorimétrico Trinder, através da análise do soro sanguíneo.

A prevalência de dislipidemia foi obtida considerando-se a média dos resultados apresentados pelas participantes, conforme apresentados na Tabela 1. Para essa finalidade, foram utilizados dois critérios: critério dos percentis proposto pelo "Jornal de Ginecologia e Obstetrícia" e pelo estudo de Piechota e Staszewski (ver Tabela 2, adiante), sendo consideradas alteradas as concentrações de CT, LDL-c e TG superiores ao percentil 95 e de HDL-c inferiores ao percentil 5 de acordo com o trimestre gestacional.[2,15] Além desses, utilizou-se também a referência proposta na "Atualização da V Diretriz Brasileira de Dislipidemia", considerando para critério diagnóstico de dislipidemia CT≥190mg/dL, TG≥150mg/dL, HDL<40mg/dL e LDL-c≥160mg/dL.[10]

Tabela 1

Características sociodemográficas, obstétricas e nutricionais de gestantes da rede pública de saúde Lavras-MG, 2018

	Amostra (67)
Variáveis	**% (n)**
Programa Bolsa Família	
Beneficiária	22,4 (15)
Não Beneficiária	77,6 (52)
Idade	
< 20 anos	17,9 (12)
≥ 20 anos	82,1 (55)
Cor da pele	
Branca	31,3 (21)
Preta	25,4 (17)
Amarela	1,5 (1)
Pardo	41,8 (28)
Estado civil	
Solteira	62,7 (42)
União estável	9,0 (6)
Casada	28,4 (19)
Escolaridade	
≤ 9 anos	17,9 (12)
> 9 anos	82,1 (55)
Renda Familiar	
Não sabe	7,5 (5)
< 2 SM	58,2 (39)
≥ 2 SM	34,3 (23)
Trimestre gestacional	
Primeiro	16,4 (11)
Segundo	58,2 (39)
Terceiro	25,4 (17)
[In]segurança alimentar	
Segurança alimentar	64,2 (43)
Insegurança alimentar leve	16,4 (11)
Insegurança alimentar moderada	9,0 (6)
Insegurança alimentar grave	10,4 (7)
IMC gestacional	
Baixo peso	19,4 (13)
Eutrofia	29,9 (20)
Sobrepeso	25,4 (17)
Obesidade	25,4 (17)

IMC: Índice de Massa Corporal.

Tabela 2

Análise de resultados de exames bioquímicos de gestantes assistidas na rede pública de saúde no município de Lavras – MG, 2018

	Média + Desvio padrão (mg/dL)	Piechota e Staszekski		Jornal de Ginecologia e Obstetrícia		Atualização V Diretriz Brasileira de Dislipidemia	
		Adequado % (n)	Inadequado % (n)	Adequado % (n)	Inadequado % (n)	Adequado % (n)	Inadequado % (n)
Triglicerídeos	145,73 ± 55,76	95,5 (64)	4,5 (3)	95,5 (64)	4,5 (3)	56,7 (38)	43,3 (29)
Colesterol Total	213,67 ± 44,63	100 (67)	0 (0)	100 (67)	0 (0)	31,3 (21)	68,7 (46)
LDL	121,08 ± 35,78	100 (67)	0 (0)	100 (67)	0 (0)	85,1 (57)	14,9 (10)
HDL	61,72 ± 14,66	94 (63)	6 (4)	94 (63)	6 (4)	97 (65)	3 (2)

HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade.

O banco de dados foi construído no *software* Epi-Info 3.5.4 (Center for Disease Controland Prevention, Atlanta, EUA). Esses foram codificados, duplamente digitados, validados e analisados através do *software* SPSS versão 20. Foram investigadas associações entre dados laboratoriais de colesterol total, HDL, LDL e triglicerídeos, abaixo e acima da média das aferições com as variáveis: Programa Bolsa Família (PBF), antropometria, estado civil, escolaridade, renda familiar, [In]segurança alimentar e idade, utilizando o teste de Poisson, para cálculo de razão de prevalência (RP), considerando valor significativo de $p<0,05$. As variáveis foram reportadas em valores absolutos e em percentuais, conforme apresentado na Tabela 3.

RESULTADOS

Foram avaliadas 67 gestantes, com idade entre 16 e 40 anos (25,16 ± 6,08), e idade gestacional média de 21,73 ± 8,38 semanas com 58,2% (n=39) no segundo trimestre gestacional.

Das gestantes avaliadas, 37,4 % (n=25) eram casadas ou viviam em união consensual e 17,9% (n=12) apresentavam até 9 anos de estudos (ver Tabela 1).

Com relação à situação de segurança alimentar, 35,8% (n=24) apresentaram algum grau de insegurança alimentar, sendo que 9,0% (n=6) apresentavam-se em situação moderada de insegurança alimentar e 10,4% (n=7) grave. Na análise dos parâmetros antropométricos, 50,8% (n=34) apresentaram IMC gestacional em excesso de peso (sobrepeso e obesidade) e 19,14 (n=13) apresentaram baixo peso (ver Tabela 1).

Na investigação de dislipidemia, considerando-se a média dos resultados apresentados pela população investigada, 100% (n= 67) apresentaram valor adequado para os parâmetros colesterol total e LDL, 95,5% (n=64) para triglicerídeos e 94,0% (n= 63) para HDL de acordo com os critérios de percentil, adotados pelo Jornal de Ginecologia e Obstetrícia e por Piechota e Staszewski. Em contrapartida, seguindo as referências propostas na "Atualização da V Diretriz Brasileira de Dislipidemia", valores inadequados foram mais perceptíveis, sendo as frações de CT e TGL as mais evidentes, correspondendo a primeira a 68,7% (n=46) e a segunda a 43,3% (n=29), conforme representado na Tabela 2.

No que tange à associação do perfil lipídico com fatores sociodemográficos e nutricionais, foi possível identificar significância para a fração de triglicerídeos, quando associada às condições: não ser beneficiária do PBF, presença de déficit e excesso de peso e ter idade inferior a 20 anos. Também, significância foi observada na associação do colesterol total às variáveis déficit de peso e cor da pele parda/preta. A fração LDL reportou significâncias quando associada ao estado civil sem companheiro e escolaridade menor que 9 anos de estudo (Tabela 3).

Tabela 3

Associação entre valores médios do perfil lipídico (triglicerídeos, colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol) em gestantes assistidas na rede pública de saúde a características sociodemográficas e nutricionais no município de Lavras – MG, 2018. N=66[a]

		Triglicerídeos			Colesterol total			HDL colesterol			LDL colesterol		
	Todas as gestantes (66) % (n)	Abaixo da média % (n)	Acima da média % (n)	RP (IC95%);	Abaixo da média % (n)	Acima da média % (n)	RP (IC95%);	Abaixo da média % (n)	Acima da média % (n)	RP (IC95%);	Abaixo da média % (n)	Acima da média % (n)	RP (IC95%);
Programa Bolsa Família													
Não Beneficiária	77,3 (51)	37,9 (25)	39,4 (26)	1,400 (1,173-1,671) *	34,8 (23)	42,4 (28)	0,933 (0,644-1,353)	37,9 (25)	39,4 (26)	0,838 (0,623-1,128)	36,4 (24)	40,9 (27)	0,844 (0,582-1,224)
Beneficiária	22,7 (15)	15,2 (10)	7,6 (5)	1	16,7 (11)	6,1 (4)	1	13,6 (9)	9,1 (6)	1	15,2 (10)	7,6 (5)	1
Cor da pele													
Preta/Parda	74, 2 (49)	37,9 (25)	36,4 (24)	0,750 (0,522-1,077)	34,8 (23)	39,4 (26)	1,078 (0,698-1,665)	37,9 (25)	36,4 (24)	1,172 (0,763-1,800)	36,4 (24)	37,9 (25)	0,984 (0,637-1,522)
Branca	25,8(17)	15,2 (10)	10,6 (7)	1	16,7 (11)	9,1 (6)	1	13,6 (9)	12,1 (8)	1	15,2 (10)	10,6 (7)	1
Estado civil													
Sem companheiro	62,1 (41)	33,3 (22)	28,8 (19)	0,873 (0,640-1,191)	33,3 (22)	28,8 (19)	0,764 (0,570-1,023)	36,4 (24)	25,8 (17)	0,679 (0,523-0,882)*	33,3 (22)	28,8 (19)	1,026 (0,746-1,410)
Com companheiro	37,9 (25)	19,7 (13)	18,2 (12)	1	18,2 (12)	19,7 (13)	1	15,2 (10)	22,7 (15)	1	18,2 (12)	19,7 (13)	1
Escolaridade													
≤ 8 anos	9,1 (6)	6,1 (4)	3,0 (2)	0,727 (0,612-0,864)*	6,1 (4)	3,0 (2)	0,928 (0,601-1,432)	3,0 (2)	6,1 (4)	1,391 (1,175-1,648)*	6,1 (4)	3,0 (2)	1,016 (0,657-1,571)
> 8 anos	90,9 (60)	47,0 (31)	43,9 (29)	1	45,5 (30)	45,5 (30)	1	48,5 (32)	42,4 (28)	1	45,5 (30)	45,5 (30)	1
Renda													
≤ 2 SM	57,6 (38)	28,8 (19)	28,8 (19)	0,964 (0,694-1,339)	33,3 (22)	24,2 (16)	0,857 (0,622-1,182)	28,8 (19)	28,8 (19)	1,048 (0,776-1,414)	36,4 (24)	21,2 (14)	0,964 (0,694-1,339)
>2 SM	42,4 (28)	24,2 (16)	18,2 (12)	1	18,2 (12)	24,2 (16)	1	22,7 (15)	19,7 (13)	1	15,2 (10)	27,3 (18)	1
Idade													
≤ 20 anos	21,2 (14)	10,6 (7)	10,6 (7)	1,565 (1,331-1,840) *	9,1 (6)	12,1 (8)	0,692 (0,591-0,812)*	9,1 (6)	12,1 (8)	1,333 (1,143-1,555) *	7,6 (5)	13,6 (9)	0,750 (0,637-0,883)*
[In]segurança alimentar													
Insegurança alimentar	36,4 (24)	16,7 (11)	19,7 (13)	0,884 (0,626-1,249)	22,7 (15)	13,6 (9)	0,980 (0,686-1,400)	22,7 (15)	13,6 (9)	0,888 (0,584-1,351)	22,7 (15)	13,6 (9)	0,884 (0,626-1,249)
Segurança alimentar	63,6 (42)	36,4 (24)	27,3 (18)	1	28,8 (19)	34,8 (23)	1	28,8 (19)	34,8 (23)	1	28,8 (19)	34,8 (23)	1

Tabela 3 (continuação)

		Triglicerídeos			Colesterol total			HDL colesterol			LDL colesterol		
	Todas as gestantes (66) % (n)	Abaixo da média % (n)	Acima da média % (n)	RP (IC95%);	Abaixo da média % (n)	Acima da média % (n)	RP (IC95%);	Abaixo da média % (n)	Acima da média % (n)	RP (IC95%);	Abaixo da média % (n)	Acima da média % (n)	RP (IC95%);
Déficit de peso ¶													
Presente	41,9 (13)	22,6 (7)	19,4 (6)	1,565 (1,331-1,840) *	22,6 (7)	19,4 (6)	1,440 (1,224-1,693) *	25,8 (8)	16,1 (5)	1,333 (1,143-1,555) *	25,8 (8)	16,1 (5)	0,750 (0,637-0,883)*
Ausente	58,1 (18)	41,9 (13)	16,1 (5)	1	35,5 (11)	22,6 (7)	1	29,0 (9)	29,0 (9)	1	38,7 (12)	19,4 (6)	1
Excesso de peso §													
Presente	66,7 (36)	27,8 (15)	38,9 (21)	1,565 (1,331-1,840) *	31,5 (17)	35,2 (19)	0,692 (0,591-0,812)*	31,5 (17)	35,2 (19)	1,333 (1,143-1,555) *	27,8 (15)	38,9 (21)	0,750 (0,637-0,883)*
Ausente	33,3 (18)	24,1 (13)	9,3 (5)	1	18,5 (10)	14,8 (8)	1	16,7 (9)	16,7 (9)	1	22,2 (12)	11,1 (6)	1

IMC: Índice de Massa Corporal; HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade; TGL: Triglicerídeos; RP: Razão de Prevalência; IC: Intervalo de Confiança; *: p<0,001 comparando acima e abaixo da média do mesmo lipídio. Teste de Poisson; ¶: Comparação entre gestantes classificadas como baixo peso (n=13) e eutróficas (n=18); §: Comparação entre gestantes classificadas como sobrepeso (n=36) e obesas (n=18); ª: 66 gestantes, pois ao dicotomizar as variáveis uma participante foi excluída devido à incompatibilidade autodeclaratória étnica, com o desfecho investigado

DISCUSSÃO

O presente trabalho revelou que o percentual de dislipidemias pelo critério da Atualização da V Diretriz Brasileira de Dislipidemia foi maior que o identificado pelo critério dos percentis. A motivação para comparar dois critérios diagnósticos para a definição de dislipidemia na gestação foi a falta de consenso sobre qual a melhor forma de diagnosticar a dislipidemia na gestação.

Em referência às associações, foi possível verificar que gestantes não beneficiárias do PBF com déficit ou excesso de peso e idade inferior a 20 anos apresentaram significância para a fração de triglicerídeos. Já é evidente que o ganho de peso inadequado no período gestacional pode acarretar resultados adversos à saúde do bebê.[19] A hipertrigliceridemia em gestantes obesas é fonte de energia para o feto.[20] Embora os triglicerídeos não atravessem a placenta, eles representam um depósito flutuante de combustível que, consecutivamente, pode afetar o feto caso haja um comprometimento da homeostase lipídica.[21]

Ademais, o achado considerável de a participante não ser beneficiária do PBF agrupado à elevação de triglicerídeos é compatível com achados já reportados na literatura, os quais determinam que a renda limitada inviabiliza o acesso regular e permanente a alimentos de qualidade e em quantidade suficientes.[22] Desse modo, a alimentação é caracterizada pela elevada presença de cereais refinados, óleos e gorduras, açúcares e produtos ultraprocessados, que possuem alta densidade energética e baixo aporte nutricional, em paralelo ao consumo insuficiente e monótono de hortaliças e frutas, fatores esses que configuram em potencial de risco patológico materno-fetal,[14] principalmente no aparecimento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT).[23]

Além disso, observou-se relação quando associado o colesterol total às variáveis déficit e excesso de peso, bem como ter idade inferior a 20 anos. O ganho de peso inadequado durante a gestação é reportado na literatura como fator de risco, haja vista que corrobora com restrição de crescimento intrauterino, predisposição à anemia e infecções, alterações no desenvolvimento motor, alterações visuais, bem como déficit no desenvolvimento da criança ao longo da vida.[24] Sabendo disso, marcadores bioquímicos como colesterol (total, HDL e LDL) e triglicerídeos (TG) são utilizados isoladamente ou em associação, como por exemplo nas correlações TG/HDL-c e LDL-c/HDL-c, apontam a incidência de importantes morbidades, como doença cardiovascular.[25]

Em relação à fração HDL observou-se associação com os desfechos excesso e déficit de peso, baixa escolaridade, idade abaixo de 20 anos e ausência de cônjuge. Em trabalhos

precedentes incluindo gestantes com sobrepeso e obesas, são notórias as hipóteses e sugestões pertinentes a um aumento consecutivo nas alterações dislipidêmicas.[24] Na tentativa de identificar riscos cardiometabólicos comparando gestantes de peso normal com gestantes de sobrepeso, observaram um aumento nos níveis de TG, CT, VLDL, LDL, porém os níveis de HDLc se mantiveram inalterados nas gestantes de peso normal, em contrapartida com os níveis significativamente baixos nas gestante com baixo peso.[26]

Além disso, a escolaridade e idade materna são consideradas um marcador obstétrico de risco, tanto para a gestante quanto para a progênie, pois influencia quando e como a gestante acessa o serviço de saúde, e o quanto compreende as orientações de autocuidado e cuidado com o bebê ao longo das consultas de pré-natal.[27]

Em relação à fração LDL, mediante as análises, ter idade inferior a 20 anos, assim como déficit ou excesso de peso foram variáveis reportadas como fator de proteção, o que na literatura é apresentado de maneira divergente,[11,12,19,20] e podemos explicar tal fato, como uma possível causalidade reversa. Por ser um estudo transversal, a exposição muda como consequência da doença, ou seja, as variáveis citadas se comportam como uma variável de confusão, distorcendo a associação entre a exposição (idade inferior a 20 anos e déficit ou excesso de peso) e o desfecho (fator de proteção para o aumento dos níveis de LDL).

Nessa perspectiva, embora algumas associações de variáveis sociodemográficas com os achados bioquímicos no território investigado tenham retratado estatística positiva, grande proporção das variáveis se mostrou independente. Portanto, é evidente a necessidade de se construir um método de referência por trimestres gestacionais para a população brasileira, assim como a utilizada para habitantes de outra nacionalidade, como as nesse estudo equiparadas.

Este trabalho apresenta algumas limitações. Trata-se de um estudo transversal, em que todas as gestantes apresentaram apenas uma determinação do lipidograma e sabe-se que as frações lipídicas, especialmente a concentração de triglicerídeos, sofrem alterações significativas dependendo da alimentação, intensidade de exercícios e variações intraensaios e interensaios laboratoriais. Sob outra perspectiva, as associações foram realizadas equiparando se a média dos achados bioquímicos populacional e os estudos que reportam dislipidemia nesse modelo são escassos. A falta de reconhecimento e a avaliação apropriada da influência dos fatores confundidores possivelmente interferem nos resultados.

Sendo assim, os achados refletem a importância de compreender a distribuição e os fatores associados aos diferentes tipos de dislipidemias no período gestacional. O direcionamento de ações de prevenção e a promoção da educação em saúde são ações que devem ser promovidas de forma integrada e ampliada, visando não o gerenciamento das DCNT, mas o monitoramento do perfil de saúde da gestante. Pesquisas que relatam a elevada prevalência de fatores de risco modificáveis e tratáveis para as dislipidemias são importantes para reestruturação do modelo de atenção básica voltado para prevenção deste problema reversível, que afeta uma substancial parcela de gestantes

A prevalência de dislipidemia avaliada pelo critério da V Diretriz Brasileira de Dislipidemia para adultos foi maior do que a prevalência identificada pelo critério dos percentis específicos da gestação. No entanto, ao associar a média de achados bioquímicos a variáveis sociodemográficas, foi possível identificar associações em baixa proporção. Sendo assim, enquanto houver limitação em se estabelecer a relação causal desses fatores e o desenvolvimento de dislipidemia no período gestacional, este tipo de estudo se torna importante para estudos de prevalência de doenças.

REFERÊNCIAS

1. Butte NF. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. Am J Clin Nutr.;2000, (5 Suppl):1256S-61S.
2. Knopp RH, Bergelin RO, Wahl PH, Walden OE, Chapman M, Irvine S. Population-based lipoprotein lipid reference values for pregnant women compared to nonpregnant women classified by sex hormone usage. Am J Obstet Gynecol.; 1982;143(6):626-37.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Cadernos de Atenção Básica, n.32. Atenção ao pré-natal de baixo risco. Brasília; 2012.
4. Cunha LR., Pretto ADB, Bampi SR, Silva JMGC. Avaliação do estado nutricional e do ganho de peso de gestantes atendidas em uma Unidade Básica de Saúde de Pelotas – RS. RBONE. 2010;3:123-132.
5. Gomes KCF, Ferreira VR, & Gomes DL. Qualidade da dieta de gestantes em uma unidade básica de saúde em Belém do Pará: um estudo piloto. Ciência & Saúde; 2015, 8:54-58.
6. Vettore MV; Vianna M. Avaliação da qualidade da atenção pré-natal dentre gestantes com e sem história de prematuridade no Sistema Único de Saúde no Rio de Janeiro, Brasil. Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil, 2013,13 (2):89-100.
7. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva: World Health Organization; 2011, 1-176.
8. World Health Organization. WHO Global NCD Action Plan 2013-2020. Genebra: World Health Organization, 2013. Acesso em 06 mar. 2021. Disponível em: <http://www.who.int/nmh/events/ncd_action_plan/em>.
9. ANVISA. Dislipidemia. Saúde e Economia, Brasília, ano 3, n.6, out. 2011. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/regulamentacao/boletim-saude-e-economia-no-6.pdf >. Acesso em 17 jan. 2018.

10. Faludi AA, et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. Sociedade Brasileira de Cardiologia; 2017, 109(2):1-76.
11. Catapano AL, et al. ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidemias: The Task Force for the Management of Dyslipidemia of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). European Heart Journal, 2016; 37(39):2999-3058.
12. Shepherd A. Obesity: prevalence, causes and clinical consequences. Nurs. Stand; 2009, 23(52): 51-7.
13. Batista LPR. Relação entre perfil lipídico da gestante e adiposidade do concepto [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2019.
14. Santos RD, et al. I Diretriz sobre o consumo de gorduras saúde cardiovascular. Sociedade Brasileira de Cardiologia; 2013, 100(1):1-48.
15. Jiang S, et al. Maternal dyslipidemia during pregnancy may increase the risk of preterm birth: A meta-analysis, Taiwan Journal of Obstetrics & Gynecology, 2017, 56(1):9-15.
16. Assistência Pré-Natal – Manual de orientação. Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia, 2016.
17. Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Brasília, 2011.
18. Segall-Correa AM, Marin-Leon L, Melgar-Quiñonez H, Perez-Escamilla R. Refinement of the Brazilian Household Food Insecurity Measurement Scale: Recommendation for a 14-item EBIA. Rev Nutr, 2014; 27(2):241-251.
19. Castano IB, Sanchez PH, Perez NA, Salvador JJG, Quesada AG, García-Hernández JA, Serra-Majem L. Maternal obesity in early pregnancy and risk of adverse outcomes. PLoS One. 2013; 8:804-10.
20. Sattar N, Greer IA. Pregnancy complications and maternal cardiovascular risk: opportunities for intervention and screening? BMJ, 2002; 325:157-60.
21. Ramsay J, Greer IA. Obesity in Pregnancy. Fetal and maternal Medicine Review. 2004; 15(2):109-32.
22. Claro RM, Carmo HCE, Machado FMS, Monteiro CA. Renda, preço dos alimentos e participação de frutas e hortaliças na dieta. Rev Saúde Pública 2007; 41:557-64.
23. Jiang S. et al. Maternal dyslipidemia during pregnancy may increase the risk of preterm birth: A meta-analysis, Taiwan journal of obstetrics & gynecology; 201756(1):9-15.
24. Isaacs JD, Magann EF, Martin RW, Chauhan SP, Morrison JC. Obstetric challenges of massive obesity complicating pregnancy. J Perinatol. 1994; 14:10-4.
25. Bittner V, Johnson D, Zineh I, Rogers WJ, Vido D, Marroquin OC, Bairey-Merz N, Sopko G. The triglyceride/ high-density lipoprotein cholesterol ratio predicts all-cause mortality in women with suspected myocardial ischemia: A Report From the Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). Am Heart J. 2009; 157:548.
26. Thomas E. A study on alteration of serum lipid profile in gestational proteinuric hypertension. J Evol Med Dental Sci. 2015; 4:11797-803.
27. Silva C.L, Rotta C. V. O dilema da universalidade e financiamento público do Sistema Único de Saúde no Brasil. Acesso em 17 mar. 2021. Disponível em: <http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fass/article/viewFile/12126/8642>.

Uso etnofarmacológico do óleo de côco: inibição de *Candida* sp., *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*

Ethnopharmacological use of coconut oil: inhibition of Candida *sp.,* Escherichia coli *and* Pseudomonas aeruginosa

Rafaela Andreola[1], *Vitória Couto da Cruz*[1], *Geórgia Muccillo Dexheimer*[2]

[1]Acadêmica de Biomedicina, Universidade do Vale do Taquari – Univates, Lajeado –RS, Brasil.

[2]Doutora em Biotecnologia. Professora na Universidade do Vale do Taquari – Univates, Lajeado – RS, Brasil.

Resumo

Introdução: A ocorrência de infecções do trato geniturinário é comum e vem aumentando de forma progressiva. Antifúngicos e antibióticos usados para o tratamento podem apresentar limitações, como o aparecimento de resistências, sendo comum as infecções recorrentes. Existem diversas substâncias de uso etnofarmacológico ditas com potencial antimicrobiano, como por exemplo o óleo de coco. Portanto, são necessários testes para comprovação dos benefícios deste uso. *Objetivo:* Avaliar *in vitro* o potencial antifúngico do óleo de coco extravirgem sobre o crescimento de espécies de *Candida, Escherichia coli e Pseudomonas aeruginosa. Metodologia:* Foi avaliada a ação antifúngica do óleo de coco comercial contra as cepas *Candida albicans* ATCC 10231 e 0051-L; *Candida krusei* 0037-L e ATCC 6258; *Candida parapsilosis* DH35 e DH83, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 utilizando as técnicas de difusão em ágar de disco-difusão e difusão em meio sólido. *Resultados:* Não houve formação de halo de inibição em nenhuma das duas técnicas avaliadas e não houve inibição do crescimento após interação entre os microrganismos e o óleo. *Conclusão:* O óleo de coco comercial não apresentou ação antifúngica nem antibacteriana através dos testes *in vitro* realizados, não sendo indicado para esta finalidade como uso etnofarmacológico.

Palavras-chave: óleo de coco; antifúngico; antibiótico; potencial de inibição

Abstract

Introduction: The occurrence of infections of the genito-urinary tract is common and has been increasing progressively. Antifungals and antibiotics used for treatment may have limitations, such as the appearance of resistance, and recurrent infections are common. There are several substances of ethnopharmacological use said to have antimicrobial potential, such as coconut oil. Therefore, it is necessary to carry out tests to prove the benefits of this use. *Objective:* to evaluate in vitro the antifungal potential of extra virgin coconut oil on the growth of *Candida sp., Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* species. *Methodology:* The antifungal action of commercial coconut oil against the strains *Candida albicans* ATCC 10231 and 0051-L; *Candida krusei* 0037-L and ATCC 6258; *Candida parapsilosis* DH35 and DH83, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 was evaluated using diffusion agar diffusion techniques and diffusion in solid medium. *Results:* There was no inhibition halo formation in either of the two techniques evaluated and there was no growth inhibition after interaction between the microorganisms and the oil. *Conclusion:* Commercial coconut oil did not show antifungal and antibacterial action through in vitro tests performed, and is not indicated for this purpose as an ethnopharmacological use.

Keywords: coconut oil; antifungals; antibiotics; inhibition potential.

Correspondência
Geórgia Muccillo Dexheimer
E-mail: gdexheimer@univates.br

Recebido em 28/01/2021 | Aprovado em 04/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202102

INTRODUÇÃO

Durante o processo de evolução, o homem aprendeu a fazer uso de plantas como fonte nutritiva e como fonte farmacológica, no alívio de dores e doenças. A consequência dessas ações resultou em conhecimento e domínio dos povos sobre a utilização de plantas e ervas medicinais, durante vários anos e diferentes grupos étnicos. Ao mesmo tempo em que medicamentos normalmente demonstram só um princípio ativo, encarregado pelo seu propósito farmacológico, os extratos vegetais são compostos por multicomponentes de diversas substâncias (ativas, parcialmente ativas e inativas), atuando em alvos farmacológicos diferentes, na maioria dos casos.[1]

A *Candida sp.* faz parte da nossa microbiota normal. Em pacientes saudáveis, ela pode estar presente na boca, na orofaringe, no intestino, na vagina e em algumas secreções, como no escarro. Na medida em que ocorre um desequilíbrio entre hospedeiro e microrganismo, a *Candida* pode se tornar patogênica, causando infecções. Em relação a algumas espécies de *Candida, Candida albicans* é a micose mais prevalente, principalmente causando candidíase vulvovaginal. É também a espécie com maior conhecimento patogênico. A *Candida krusei* é conhecida como o patógeno fúngico que apresenta maior resistência a diversos antifúngicos, principalmente a sua resistência intrínseca ao fluconazol. Já em relação à *Candida parapsilosis,* são muito frequentes em micoses das unhas das mãos.[2]

A candidíase é considerada um problema de saúde pública, pois o aumento da sua prevalência deve-se ao elevado número de imunodeprimidos, principalmente infectados pelo HIV, ou indivíduos que utilizam por longos períodos medicamentos antimicrobianos, desencadeando um desequilíbrio na microbiota. A ocorrência de infecções fúngicas vem aumentando progressivamente. Os antifúngicos usados para tratamento contra essas infecções são bastante limitados e a resistência a esses fármacos vem se tornando cada vez mais comum, dificultando o manejo terapêutico.[3]

Entre os principais patógenos relacionados com as infecções do trato urinário, pode-se destacar as bactérias Gram-negativas, incluindo a *Escherichia coli* como o microrganismo mais frequentemente encontrado, em aproximadamente 70% a 80% dos casos, seguida de outras bactérias Gram-negativas e Gram-positivas como *Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella sp., Enterobacter sp., Enterococcus faecalis, Proteus sp., Streptococcus sp. e Staphylococcus aureus.*[4]

É notável a ocorrência de automedicação, pois muitos medicamentos são comercialmente vendidos mesmo com a ausência de prescrição, o que acaba contribuindo para o aumento da resistência aos antifúngicos.[5] Sendo assim, é necessária a busca de novas estratégias de tratamentos alternativos para tratar essas infecções. Atualmente, a medicina popular acredita que o óleo de coco *(cocos nucifera*) possui componentes em sua constituição capazes de curar ou contribuir no tratamento de diversas patologias. Como conhecimento popular, sugere-se o uso de óleo de coco na região íntima a fim de prevenir e/ou tratar infecções fúngicas, especialmente a candidíase.[6]

Portanto, é importante avaliar o real impacto deste produto no crescimento de tais microrganismos para testar seu potencial antifúngico neste modo de apresentação comercial. O objetivo desse estudo é avaliar *in vitro* o potencial antifúngico do óleo de coco extravirgem sobre o crescimento de espécies de *Candida, Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa.*

METODOLOGIA

As cepas utilizadas foram:*Candida albicans* ATCC 10231; *Candida albicans* 0051-L; *Candida krusei* 0037-L; *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida parapsilosis* DH35; *Candida parapsilosis* DH83; *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853).

O ágar Mueller-Hinton (Oxoid) é um meio utilizado para teste de suscetibilidade antimicrobiana, ou seja, teste de avaliação da resistência aos antimicrobianos. Para prepará-lo, foram adicionados 38g do produto a um litro de água destilada e a solução foi então fervida para dissolver completamente o pó. Em seguida, a solução foi esterilizada em autoclave a 121ºC por 15 minutos. Após, o meio foi distribuído em placas de petri estéreis e levado para a geladeira para solidificar. As placas foram embaladas em sacos plásticos e acondicionadas em posição invertida (tampa voltada para baixo), de modo a evitar a desidratação do meio e garantir, portanto, boas condições de armazenamento. A manipulação das placas sempre foi realizada próximo ao bico de Bunsen para evitar possíveis contaminações. As placas foram deixadas em estufa bacteriológica por 24 horas a 37ºC, servindo como controle de esterilidade. Após este período foram estocadas em geladeira (15ºC) até o momento de uso, não ultrapassando o período de duas semanas.

As leveduras estavam congeladas em freezer a -20°C em meio *skim milk*. Para a sua ativação, estas foram descongeladas, homogeneizadas, e inoculadas em meio de cultura Mueller-Hinton com o auxílio de um *swab* estéril. As placas foram incubadas em estufa micológica a 37ºC por 24 horas. Após o crescimento das cepas, a ação antifúngica do óleo

de coco comercial foi testada através de duas técnicas de difusão em ágar: disco-difusão[7] e difusão em meio sólido.[8] Foi preparada uma alíquota com solução fisiológica conforme escala de 0,5 de McFarland (1,0 x 10^8 UFC/mL). Essa alíquota foi semeada no meio de cultura Mueller-Hinton em triplicata. Em seguida, discos de papel filtro devidamente esterilizados foram colocados com o auxílio de uma pinça flambada nas placas. Com o auxílio de uma micropipeta foi impregnado 20µL do óleo de coco comercial nos discos.

Já para o teste de difusão em meio sólido, após a semeadura foi aplicada a técnica de perfuração feita através de cânulas, obtendo poços de 6mm de diâmetro. Utilizou-se alíquotas de 50µL de óleo de coco comercial em temperatura ambiente em cada poço. As placas foram igualmente incubadas a 37ºC por 24 horas. Como controle positivo, foi utilizado o antifúngico fluconazol para verificar o controle de crescimento da levedura e viabilidade da cepa. As placas foram incubadas a 37ºC por 24 horas. Após a incubação foi realizada a medição dos halos que apresentaram diâmetro maior que 10mm.

RESULTADOS

Após a ativação das cepas foi realizado primeiramente o teste de difusão em discos (Figura 1A). Após a análise dos resultados, foi utilizada uma segunda técnica, de difusão em meio sólido para verificação e confirmação dos resultados obtidos (Figura 1B). Ainda, foi realizada uma inoculação em placa de cada microrganismo na escala 0,5 de MacFarland misturada com 100µL/mL de solução fisiológica de óleo de coco comercial (Figura 1C).

DISCUSSÃO

A partir da realização dos testes de difusão em disco e difusão em meio sólido com as cepas de diferentes espécies de *Candida* sp., *Escherichia coli e Pseudomonas aeruginosa,* observou-se que não houve formação de halos de inibição, indicando que o óleo de coco comercial não apresenta potencial de inibição do crescimento destes microrganismos. A busca por novas fontes de substâncias fitoterápicas que possuam atividade antimicrobiana e antifúngica é incentivada pelo baixo custo maior disponibilidade. As plantas apresentam, em seu metabolismo, compostos de ampla atividade biológica com diferentes efeitos terapêuticos.[9]

Devido ao aumento da resistência em relação a diversos antimicrobianos, o uso de plantas medicinais mostrou-se como uma alternativa no tratamento dessas infecções. Nessa esfera, surge o óleo de coco, muito utilizado popularmente não só para fins culinários mas também para uso em tratamentos alternativos de lesões causadas por fungos. O principal objetivo desse estudo foi testar e buscar o potencial antifúngico do óleo de coco, que já vinha sendo abordado em *sites* populares da Internet para seu uso etnofarmacológico, indicando que o uso tópico do óleo nas regiões afetadas ou, ainda, utilizando absorventes internos embebidos com o óleo pudessem ser úteis para tratar candidíases. Alguns estudos relataram o potencial antifúngico do óleo, sendo que o uso tópico em animais já foi testado, bem como o potencial inibitório de crescimento *in vitro*.[10,11]

O resultado do presente estudo demonstrou ausência de inibição de crescimento fúngico com o óleo de coco

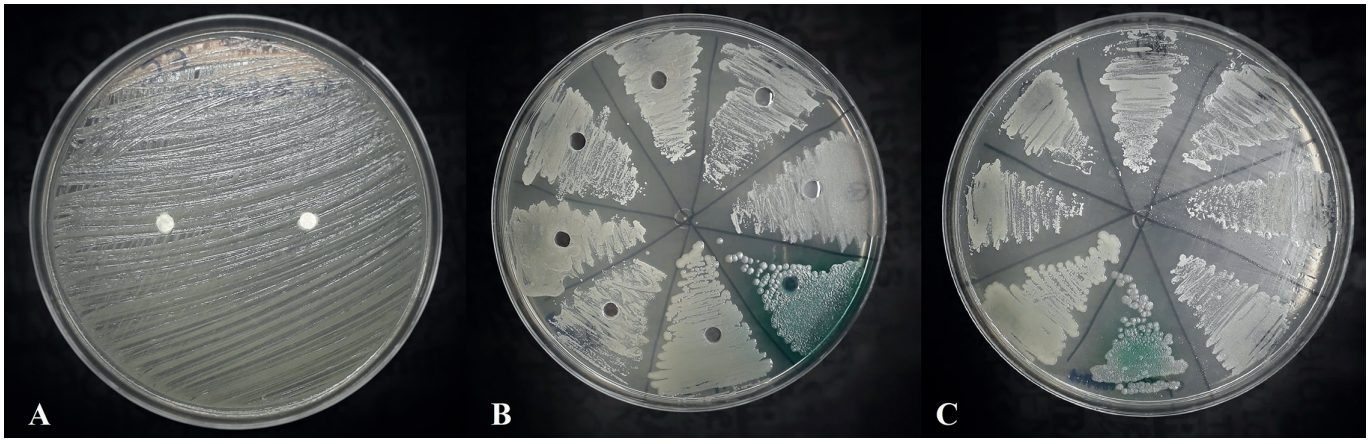


Figura 1

A. Testes em ágar Mueller-Hinton pela técnica de difusão em disco embebido com óleo de coco. **B.** Teste em ágar Mueller-Hinton com a técnica de perfuração do ágar. **C.** Semeadura em escala 0,5 de MacFarland homogeneizada com 100µL/mL de solução fisiológica de óleo de coco comercial.

comercial. Já para Santos et al.,[12] onde foram preparadas nanocápsulas com óleo de coco e clotrimazol, apresentaram atividade antifúngica contra a *Candida spp*. Assim, foi possível concluir que essas nanocápsulas com núcleo de óleo de coco preenchidas com clotrimazol são estratégia relevante como tratamento da candidíase vulvovaginal, todavia faz pensar que a atividade antifúngica se deve ao clotrimazol e não ao óleo de coco, já que o clotrimazol é um conhecido antifúngico com eficácia já bem estabelecida em diversos estudos, utilizado em larga escala comercialmente.

Segundo Ogbolu et al.,[11] foi possível concluir que o óleo de coco apresentou potencial antifúngico contra algumas espécies de *Candida*, como a *Candida albicans, Candida glabrata, Candida tropicalis, Candida krusei e Candida parapsilosis*, relacionando com o uso do antifúngico fluconazol através do método de difusão em ágar. Com o estudo foi possível observar a importância do óleo de coco frente a sua utilização no tratamento de infecções causadas por fungos, devido à resistência que várias espécies *Candida* apresentam com o uso de fármacos antifúngicos comuns. Em outro estudo realizado por Seleem et al.,[13] identificou que a monolaurina, um constituinte importante do óleo de coco, apresentou potenciais atividades antifúngicas contra *Candida albicans in vitro*, quando avaliado tanto em testes de suscetibilidade quanto em ensaios de biofilme.

O óleo de coco apresenta em sua composição 92% de ácidos graxos saturados, na forma de triglicerídeos, sendo que cerca de 70% são de ácidos graxos de cadeia média. Entre os ácidos graxos, 45% a 50% é ácido láurico, apresentando também 7% de ácido caprílico e 6% de ácido cáprico. O ácido caprílico apresenta ação contra bactérias patogênicas, incluindo a *Escherichia coli*.[14] O ácido láurico, ácido graxo primário do óleo de coco, possui atividade antimicrobiana comprovada de forma significativa contra algumas bactérias Gram-positivas, vírus e fungos. O óleo de coco possui ativos com atividade microbicida em microrganismos, entre eles a *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, através da formulação de cremes que utilizam o extrato do óleo de coco e a realização de testes de inoculação na pele, porém estabelece a necessidade de padronização da qualidade e quantidade de óleo de coco, usada nos testes com fins terapêuticos.[15]

O óleo de coco virgem é tradicionalmente utilizado como hidratante há muitos anos por indivíduos que vivem em regiões tropicais, com a finalidade de tratar problemas/doenças da pele. Estudos clínicos demonstram que ele garante uma melhora da função da barreira cutânea, conferindo proteção contra a radiação UVB. Seu uso de forma tópica possui ação anti-inflamatória capaz de inibir níveis de citocinas, incluindo TNF-α, IFNγ, IL-6, IL-5 e IL-8.[16] Em estudo realizado por Kim et al.,[17] constata-se que a citotoxicidade do extrato de óleo de coco cultivado demonstra efeitos anti-inflamatórios e melhora da barreira epitelial contra alterações acometidas pela radiação UVB na pele humana. Deduz-se que o aumento de polifenóis e ácidos graxos são os responsáveis pela ação da atividade anti-inflamatória.

A monolaurina, monoglicerídeo derivado do ácido láurico, presente no óleo de coco, apresenta atividade antimicrobiana, que se processa por meio de mecanismos que desintegram a membrana lipídica de bactérias envolvidas por lipídios, incluindo *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*.[18]

Podem-se verificar os efeitos promissores de óleos e manteigas vegetais na cura de feridas na pele por conta do seu potencial antimicrobiano, anti-inflamatório e antioxidante, promovendo a proliferação celular, aumentando a síntese de colágeno e estimulando a reconstrução da pele. Dentre os óleos apresentados no estudo está o óleo de coco. Deve-se avaliar quais componentes presentes no óleo conferem este potencial farmacológico importante e qual a concentração necessária para este efeito. Logo, sugere-se que o óleo de coco comercial utilizado de modo tópico em regiões com infecções microbianas pode promover o alívio de sintomas como dor e coceira, por promover o reparo do tecido, porém não necessariamente eliminando o microrganismo completamente. Portanto, salienta-se a importância de uma avaliação microbiológica para a correta escolha terapêutica, não sendo o óleo de coco o único meio utilizado por não conhecer as concentrações e efeitos das diversas marcas comercializadas.[19,20]

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos na presente pesquisa, percebeu-se que o óleo de coco comercial não apresentou potencial antimicrobiano mínimo para promover inibição do crescimento microbiano. Como discutido, o óleo de coco pode apresentar funções importantes no processo anti-inflamatório e no reparo de tecidos. Sendo assim, o uso etnofarmacológico do óleo pode permitir o alívio de sintomas provocados por infecções como irritação local, prurido, ardência, porém sem controlar o agente etiológico, necessariamente. Portanto, salienta-se a importância de avaliar corretamente cada processo patológico e fazer uso da terapêutica adequada a fim de evitar recidivas da infecção mal curada. Desta forma, percebe-se a necessidade de realizar

outros testes de sensibilidade antimicrobiana do extrato de óleo de coco, que demonstrem em qual concentração ou fração deste extrato situa-se o elemento responsável pela ação inibitória do crescimento de patógenos. Por fim, cabe salientar que tratamentos não convencionais devem apresentar efetividade e segurança para uso.

SUPORTE FINANCEIRO

Os custos para a realização da presente pesquisa foram arcados pela instituição de ensino Universidade do Vale do Taquari – Univates.

REFERÊNCIAS

1. Ferreira VF, Pinto AC. A fitoterapia no mundo atual. Revista Quim Nova. 2010; 33(9).
2. Barbedo LS, Sgarbi D. Candidiasis. DST - J Bras Doenças Sex Transm. 2010; 22(1), 22-38.
3. Wang Y. Looking into Candida albicans infection, host response, and antifungal strategies. Virulence. 2015; 6(4), 307-308.
4. Schenkel D, Dalle J, Antonello VS. Prevalência de uropatógenos e sensibilidade antimicrobiana em uroculturas de gestantes do Sul do Brasil. Rev Bras Ginecol Obstet. 2014; 36(3), 102-106.
5. Leal MR, Lima MC, Klein SD, Garboggi PV. Tratamento da candidíase vulvovaginal e novas perspectivas terapêuticas: uma revisão narrativa. Revista Pesquisa em Fisioterapia. 2016 Nov 25;6(4).
6. DebMandal M, Mandal S. Coconut (Cocos nucifera L.: Arecaceae): in health promotion and disease prevention. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2011 Mar 1;4(3):241-7.
7. Trajano VN, Lima ED, Souza EL, Travassos AE. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. Food Science and Technology. 2009 Sep;29(3):542-5.
8. Lima ID, Oliveira RD, Lima ED, Farias NM, Souza EL. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de Candida. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2006 Jun;16(2):197-201.
9. Eller CB, Lima AL, Oliveira RS. Cloud forest trees with higher foliar water uptake capacity and anisohydric behavior are more vulnerable to drought and climate change. New Phytologist. 2016 Jul;211(2):489-501.
10. Nardoni S, Mugnaini L, Pistelli L, Leonardi M, Sanna V, Perrucci S, Pisseri F, Mancianti F. Clinical and mycological evaluation of an herbal antifungal formulation in canine Malassezia dermatitis. Journal de Mycologie Medicale. 2014 Sep 1;24(3):234-40.
11. Ogbolu DO, Oni AA, Daini OA, Oloko AP. In vitro antimicrobial properties of coconut oil on Candida species in Ibadan, Nigeria. Journal of Medicinal Food. 2007 Jun 1;10(2):384-7.
12. Santos SS, Lorenzoni A, Pegoraro NS, Denardi LB, Alves SH, Schaffazick SR, Cruz L. Formulation and in vitro evaluation of coconut oil-core cationic nanocapsules intended for vaginal delivery of clotrimazole. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2014 Apr 1;116:270-6.
13. Seleem D, Chen E, Benso B, Pardi V, Murata RM. In vitro evaluation of antifungal activity of monolaurin against Candida albicans biofilms. Peer J. 2016 Jun 22;4:e2148.
14. Annamalai T, Nair MK, Marek P, Vasudevan P, Schreiber D, Knight R, Hoagland T, Venkitanarayanan K. In vitro inactivation of Escherichia coli O157: H7 in bovine rumen fluid by caprylic acid. Journal of Food Protection. 2004 May;67(5):884-8.
15. Oyi AR, Onaolapo JA, Obi RC. Formulation and antimicrobial studies of coconut (Cocos nucifera Linne) oil. Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology. 2010 Mar 10;2(2):133-7.
16. Varma SR, Sivaprakasam TO, Arumugam I, Dilip N, Raghuraman M, Pavan KB, Rafiq M, Paramesh R. In vitro anti-inflammatory and skin protective properties of Virgin coconut oil. Journal of Traditional and Complementary Medicine. 2019 Jan 1;9(1):5-14.
17. Kim S, Jang JE, Kim J, Lee YI, Lee DW, Song SY, Lee JH. Enhanced barrier functions and anti-inflammatory effect of cultured coconut extract on human skin. Food and chemical toxicology. 2017 Aug 1;106:367-75.
18. Lin TK, Zhong L, Santiago JL. Anti-inflammatory and skin barrier repair effects of topical application of some plant oils. International Journal of Molecular Sciences. 2018 Jan;19(1):70.
19. Poljšak N, Kreft S, Kočevar Glavač N. Vegetable butters and oils in skin wound healing: Scientific evidence for new opportunities in dermatology. Phytotherapy Research. 2020 Feb;34(2):254-69.
20. Vaughn AR, Clark AK, Sivamani RK, Shi VY. Natural oils for skin-barrier repair: ancient compounds now backed by modern science. American Journal of Clinical Dermatology. 2018 Feb;1

Ocorrência de hipotireoidismo e hipertireoidismo em pacientes atendidos no Laboratório de Análises Clínicas de um Centro Universitário do Estado do Pará

Occurrence of hypothyroidism and hyperthyroidism in patients attended at the Clinical Analyses Laboratory of a University Center of the State of Pará

Carlos Eduardo da Silva Gonçalves[1], Ediberto Nunes[2]

[1] Bacharel em Farmácia.

[2] Farmacêutico-Bioquímico, Mestre em Ciências Morfológicas, Especialista em Citologia Clínica e Análises Clínicas, Docente no Centro Universitário do Estado do Pará, Belém, PA, Brasil.

Resumo

Objetivo: Esta pesquisa buscou verificar a ocorrência de disfunções tireoidianas através de resultados laboratoriais em pacientes adultos atendidos no Laboratório de Análises Clínicas do Centro Universitário do Pará no período de janeiro a março de 2019. *Métodos*: Dados referentes às dosagens do hormônio estimulador da tireoide (TSH) e da Tiroxina livre (T4L) administradas durante o período de janeiro a março de 2019 foram coletados. Pacientes de sexo masculino e feminino com idade entre 20 e 90 anos foram inclusos, tendo assim 385 pacientes ao total, sendo 344 do sexo feminino e 41 de sexo masculino. *Resultados*: O sexo feminino representou 89,35% da amostra, enquanto o sexo masculino teve um percentual de 10,65%. Analisando os grupos etários observou-se uma maior frequência de pacientes com 51 a 60 anos. Quanto à presença de disfunção tireoidiana, 59 mulheres apresentaram algum distúrbio na glândula, sendo o hipotireoidismo subclínico o mais frequente (67,8%). Apenas 7 homens apresentaram alguma disfunção na tireoide, com o hipotireoidismo subclínico também sendo o mais frequente (71,4%). Entre os 385 pacientes, 319 (83%) apresentaram resultados compatíveis com uma função tireoidiana normal, enquanto 66 (17%) mostravam resultados indicando uma irregularidade na glândula. *Conclusão*: Neste estudo foi notada uma maior frequência de pacientes de sexo feminino realizando as dosagens de TSH e T4L, havendo também a maior frequência de hipotireoidismo subclínico em ambos os sexos. Portanto, a interpretação dos resultados de TSH e T4L em conjunto com as características individuais de cada paciente é de grande relevância na triagem de doenças tireoidianas.

Palavras-chave: Glândula Tireoide; Hipertireoidismo; Hipotireoidismo

Abstract

Objective: This research aimed to verify the occurrence of thyroid dysfunctions in patients attended at the Clinical Analyses Laboratory of the University Center of the State of Pará through their exam results. *Methods*: Data from the dosages of the thyroid stimulating hormone (TSH) and free tiroxin (T4L) made during the period from January through march of 2019 were collected. Patients of both masculine and feminine sexes with age ranging from 20 to 90 years old were included, thus having 385 patients in total: 344 females and 41 males. *Results*: Female patients represented 89.35% of the sample, whilst male patients had a frequency of 10.65%. Analyzing the age groups it was observed a higher frequency of patients with an age ranging from 51 to 60 years old. Regarding the presence of thyroid dysfunctions, 59 women showed some form of disturb in the gland, with subclinical hypothyreoidism being the most frequent (67.8%). Only 7 men showed some form of thyroid dysfunction, with subclinical hypothyreoidism also being the most frequent (71.4%). Among the 385 patients, 319 (83%) showed results compatible with a normal functioning thyroid, while 66 (17%) showed results indicating an irregularity in the gland. *Conclusion*: In this study, a higher frequency of female patients measuring their TSH and T4L was noted, and there was also a higher frequency of subclinical hypothyreoidism in both sexes. Therefore, the interpretation of TSH and T4L results in conjunction with the individual characteristics of each patient is of great relevance in the screening of thyroid dysfunctions.

Keywords: Thyroid Gland; Hyperthyroidism; Hypothyroidism

Correspondência
Ediberto Nunes
E-mail: edibertonunes@terra.com.br

Recebido em 27/01/2021 | Aprovado em 04/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202100

INTRODUÇÃO

A glândula tireoide é um órgão localizada abaixo da laringe, estendendo-se sob as regiões laterais e anterior da traqueia. Considerada como um dos maiores órgãos endócrinos do organismo, esta glândula é responsável pela produção de hormônios essenciais para o metabolismo humano, como a tiroxina (T4) e a tri-iodotironina (T3), e para a regulação da concentração de cálcio no organismo, que se dá através da calcitonina.[1]

Para que as atividades fisiológicas da tireoide ocorram normalmente, há a participação do hipotálamo na regulação da glândula, o qual produz o hormônio liberador de tireotropina (TRH). Por sua vez, o TRH atua sobre a hipófise anterior, estimulando a síntese de outro hormônio conhecido como hormônio estimulador da tireoide (TSH), que age diretamente na produção e secreção de T3 e T4. Em condições íntegras, o eixo hipotálamo-hipófise-tireoide funciona através de um mecanismo de *feedback* negativo, em que os hormônios bloqueiam a liberação de TRH e TSH, resultando na regulação da atividade glandular. O comprometimento do mecanismo regulatório da tireoide dá origem às disfunções tireoidianas, distúrbios com grande presença na clínica médica e que resultam em grandes alterações no organismo.[1,2]

Como os principais distúrbios da tireoide, tem-se o hipertireoidismo, consequente da intensificação da produção e liberação dos hormônios tireoidianos, e o hipotireoidismo, síndrome clínica resultante da quantidade insuficiente ou ausente de hormônios tireoidianos disponíveis na circulação. Ambas as disfunções apresentam mais de uma forma de apresentação, destacando nesta pesquisa as variantes clínicas e subclínicas do hipertireoidismo e do hipotireoidismo.[3]

A hiperfunção da glândula tireoide com consequente hipertireoidismo apresenta sinais e sintomas característicos, que incluem ansiedade, nervosismo, irritabilidade, fraqueza muscular, palpitação, taquicardia, intolerância ao calor, tremor, anemias, entre outros.[2] O desenvolvimento de hipertireoidismo tem como causa mais comum a doença de Graves, uma patologia autoimune em que há a produção de anticorpos direcionados ao receptor de TSH. Outras etiologias comuns para o hipertireoidismo incluem deficiência de iodo, redução do tecido da tireoide e câncer da tireoide.[3]

Para o laboratório de análises clínicas, o hipertireoidismo clínico é definido pela presença de concentrações elevadas de T3 e T4, enquanto os níveis de TSH encontram-se reduzidos. Ainda neste contexto, o hipertireoidismo subclínico é identificado em exames laboratoriais pela redução nos níveis de TSH, enquanto ambos, T3 e T4, se mantêm na faixa de normalidade.[3,4]

Contrariamente ao hipertireoidismo, o hipotireoidismo é definido como um estado clínico em que a supressão da glândula tireoide resulta em quantidades reduzidas ou ausentes de T4 e T3. As consequências clínicas do pouco funcionamento da tireoide manifestam-se como retardo mental, pele seca, queda de cabelo, cansaço, entre outros.[3,5] A principal etiologia do hipotireoidismo é conhecida como Tireoidite de Hashimoto, que, similar à doença de Graves, também ocorre por ação autoimune do organismo, assim originando seu outro nome, de tireoidite crônica autoimune. De maneira geral, a prevalência de hipotireoidismo é maior em indivíduos brancos do que negros, e superior no sexo feminino quando comparado ao masculino.[5]

O hipotireoidismo também pode se apresentar em forma clínica e subclínica, como o hipertireoidismo. Para diagnóstico laboratorial de hipotireoidismo clínico, o paciente apresentará dosagens baixas de T3 e T4, enquanto a concentração de TSH estará aumentada. A forma subclínica da patologia também resulta em níveis séricos elevados de TSH, todavia, assim como no hipertireoidismo subclínico, as dosagens de T3 e T4 estarão normais.[3,5]

A partir do perfil bioquímico evidenciado nos casos de hipertireoidismo e de hipotireoidismo, a dosagem de TSH é escolhida como exame de triagem diagnóstica, sendo esse exame o mais sensível e específico para identificar as disfunções tireoidianas, considerando-se que pequenas alterações na quantidade de T4 acarretam uma variação grande na circulação de TSH. Em conjunto com a dosagem de TSH, o laboratório clínico também pode usar os valores de T3, T4 total e T4 livre para realizar triagem da função tireoidiana, avaliar a eficácia terapêutica e para monitorar o tratamento da patologia apresentada.[3]

Com isso, nota-se que para se chegar a uma prática clínica de qualidade, é necessária uma boa avaliação do perfil laboratorial do paciente que faz uso do laboratório clínico. Através da triagem diagnóstica e do acompanhamento da patologia identificada, é possível prestar um bom cuidado com o paciente que apresenta alguma disfunção tireoidiana, podendo posteriormente serem solicitados exames voltados a doenças autoimunes da tireoide, tendo como exemplo de antígenos relevantes para patogênese de tireoidopatias a tireoglobulina, tireoperoxidase e receptor de TSH.[1,3]

Em virtude do exposto, a presente pesquisa teve como objetivo coletar dados de resultados laboratoriais de pacientes atendidos no Laboratório de Análises Clínicas do Centro

Universitário do Estado do Pará (LAC-CESUPA), localizado na cidade de Belém, que realizaram as dosagens de TSH e T4 livre (T4L) durante o período de janeiro a março de 2019 para identificar possíveis quadros de disfunções tireoidianas.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de uma pesquisa transversal, onde foi realizada a coleta de resultados laboratoriais referentes às dosagens sorológicas de TSH e T4L durante o período de janeiro a março de 2019 no LAC-CESUPA, PA, para análise.

Para realização do estudo, foram inclusos resultados de pacientes com idade igual ou superior a 20 anos e igual ou inferior a 90 anos, de ambos os sexos, que realizaram a dosagem de TSH em conjunto com a de T4L. Resultados de pacientes com idade fora do intervalo estabelecido, que realizaram apenas um dos exames ou que não apresentavam dados válidos no sistema do laboratório foram excluídos. Com base nisto, foi obtido no total uma amostragem de 385 resultados laboratoriais, sendo 344 de pacientes do sexo feminino e 41 de sexo masculino.

Como valores de referência para os resultados sorológicos de TSH e T4L, foram adotados aqueles propostos por Carvalho *et al.*[6], estabelecendo a normalidade de TSH como 0,4 a 4,5 mUI/L e a de T4L como 0,7 a 1,8 ng/dL.

A metodologia adotada para dosagens no laboratório foi a de *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), que é baseada na interação de antígenos com anticorpos específicos, resultando em uma alteração colorimétrica a ser avaliada em laboratório com uso de leitores específicos. A técnica de ELISA foi aplicada com reagentes comerciais padronizados e aprovados para uso pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Os dados coletados foram tabelados no *software* Microsoft Excel, onde fez-se o uso de estatística descritiva (percentuais e médias) das variáveis analisadas.

ÉTICA

Esta pesquisa foi realizada de acordo com as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos, tendo sido aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CESUPA (CEP-CESUPA) sob o protocolo CAAE 23996719.4.0000.5169 e número de parecer 3.952.122. Todos os seus participantes, assim como o responsável pelo banco de dados assinaram o Termo de Compromisso para Utilização de Dados e Prontuários. O sigilo dos pacientes participantes foi mantido.

RESULTADOS

No período de janeiro a março de 2019, o LAC-CESUPA realizou 385 dosagens de TSH e T4L em pacientes com idade no intervalo entre 20 a 90 anos. Entre este grupo de estudo, a maioria foi do sexo feminino, com 344 pacientes, representando 89,35% da amostra. O grupo masculino, com 41 pacientes, representou 10,65% da amostra. A Tabela 1 mostra a estratificação destes grupos com base em intervalos de idade, sendo possível observar que, em ambos os grupos, a faixa etária com maior realização dos exames tireoidianos foi a com idade entre 51 a 61 anos, coincidentemente apresentando o mesmo percentual de 24,4% no sexo masculino e feminino.

Tabela 1

Distribuição de pacientes que realizaram as dosagens de T4L e TSH de acordo com sua idade e gênero. Belém/PA – Janeiro a Março de 2019.

Idade (anos)	Feminino (n=344)		Masculino (n=41)	
	n	%	n	**%**
20 –30	23	6,7	4	9,8
31 – 40	43	12,5	6	14,6
41 – 50	62	18	8	19,5
51 – 60	84	24,4	10	24,4
61 – 70	71	20,6	3	7,3
71 – 80	50	14,5	7	17,1
81 – 90	11	3,2	3	7,3
TOTAL	344	100	41	100

Fonte: Dados coletados de resultados laboratoriais.

Com base nos valores obtidos das dosagens hormonais, os pacientes foram classificados de acordo com o seu perfil tireoidiano, conforme observado na Tabela 2. Diante dos resultados, pode-se observar que 59 pacientes de sexo feminino apresentaram alguma disfunção tireoidiana, sendo o hipotireoidismo subclínico o mais frequente, representando 67,8% dos distúrbios do grupo feminino. Para o sexo masculino, apenas 7 apresentaram algum distúrbio na glândula, todavia o hipotireoidismo subclínico também foi o mais frequente entre homens, equivalendo a 71,4% das disfunções observadas no grupo masculino.

A Figura 1 mostra a frequência de qualquer disfunção tireoidiana entre todos os pacientes atendidos no LAC-CESUPA durante o período de janeiro a março de 2019, sendo possível notar que 319 (83%) dos 385 pacientes apresentaram uma função tireoidiana considerada normal, enquanto 66 (17%) mostraram algum distúrbio na glândula estudada.

Tabela 2

Perfil tireoidiano de pacientes atendidos no LAC-CESUPA com base em seu diagnóstico laboratorial*. Belém/PA – Janeiro a Março de 2019.

Diagnóstico laboratorial	Feminino (n=59)		Masculino (n=7)	
	n	%	n	%
Hipotireoidismo clínico	3	5.1	1	14.3
Hipotireoidismo subclínico	40	67.8	5	71.4
Hipertireoidismo clínico	9	14.2	0	0
Hipertireoidismo subclínico	7	11.9	1	14.3
Total	59	100	7	100

Fonte: Dados coletados de resultados laboratoriais.

*Os valores de referência para a sorologia foram de acordo com Carvalho *et al*[6], sendo adotado como normalidade os intervalos de TSH: 0.4 – 4.5 mUI/L e T4L: 0.7 – 1.8 ng/dL.

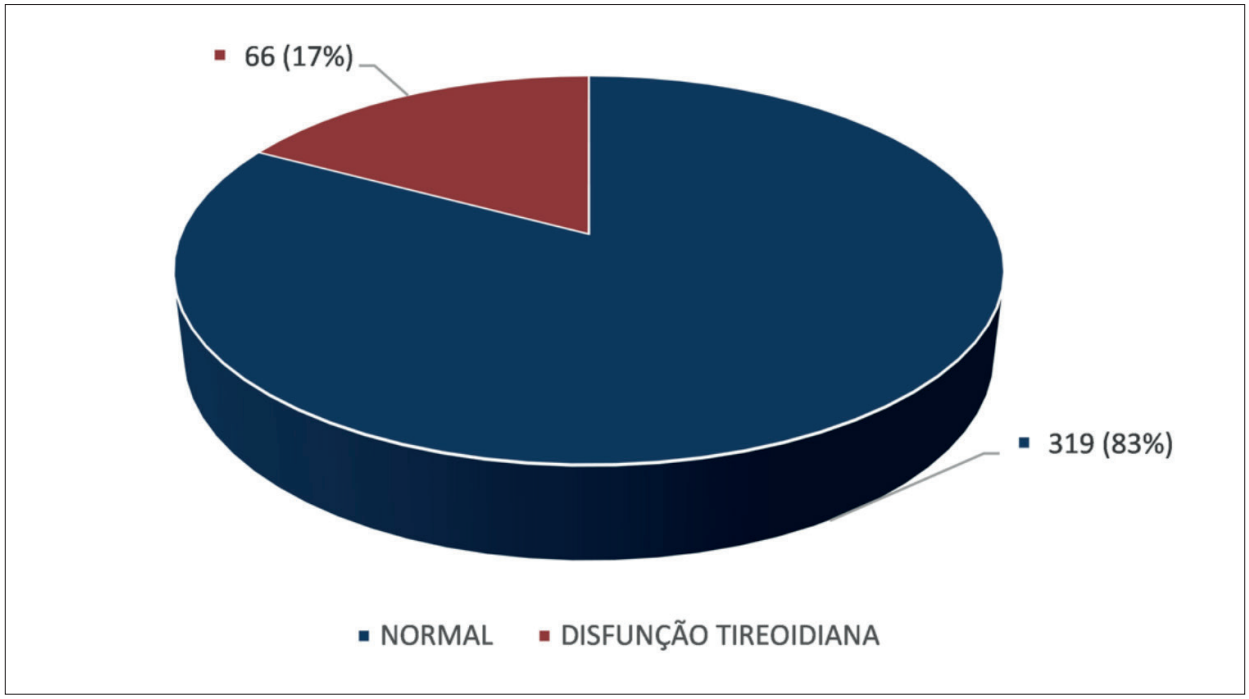


Figura 1

Frequência de disfunções tireoidianas entre pacientes atendidos no LAC-CESUPA. Belém/PA – Janeiro a Março de 2019.

Fonte: Dados coletados de resultados laboratoriais.

DISCUSSÃO

A mensuração de níveis de TSH é considerada o teste mais recomendado na triagem de hipotireoidismo e hipertireoidismo. A relação *log-linear* causada pela secreção de T3 e T4 em conjunto com o mecanismo de *feedback* negativo provocam grandes alterações nos valores de TSH, mesmo havendo poucas mudanças séricas de T3 e T4, tornando a determinação de TSH a metodologia mais sensível para uso na prática clínica.[6]

Os distúrbios tireoidianos têm origem autoimune e afetam de 5% a 10% da população geral, podendo se manifestar de duas formas: a tireoidite de Hashimoto, causando hipotireoidismo, e a doença de Graves, que resulta em hipertireoidismo.[7] Para melhor investigar uma possível patologia na glândula tireoide, o uso de outros parâmetros bioquímicos também se tornam importantes, tendo em vista que tanto o hipotireoidismo como o hipertireoidismo podem manifestar formas clínicas e subclínicas.[3,5] Neste contexto, o uso dos testes de TSH e T4L são utilizados tradicionalmente, sendo considerados os "testes da função tireoidiana", com sua sensibilidade permitindo o diagnóstico do hipertireoidismo e do hipotireoidismo.[8]

Com base nisto, a presente pesquisa baseou-se nos resultados laboratoriais referentes a marcadores bioquímicos específicos para a tireoide com a intenção de avaliar a presença de disfunções tireoidianas em formas clínicas e subclínicas entre os pacientes atendidos no LAC-CESUPA e comparar com as frequências mostradas na literatura.

Mediante os resultados obtidos, pode-se notar que o quantitativo de exames de TSH e T4L foi maior entre pacientes com idade mais avançada, especificamente na faixa entre os 51 a 60 anos de idade, grupo que apresentou maior representatividade em ambos os sexos, com 84 pacientes de sexo feminino e 10 de sexo masculino. Pacientes de idade avançada necessitam de uma melhor atenção para este quadro clínico, tendo em vista que a subnotificação de disfunções tireoidianas, em especial o hipotireoidismo, é frequente em razão de os sintomas serem similares a processos fisiológicos comuns do envelhecimento. Somado a isto, o avanço na idade é comumente acompanhado de comorbidades associadas com a doença.[9]

Em um censo realizado pelo Instituto da Tireoide (INDATIR), problemas relacionados à glândula tireoide estão presentes em cerca de 15% da população acima dos 45 anos. O aumento na frequência destes distúrbios com o avanço da idade está relacionado ao próprio envelhecimento da glândula ou a processos fisiológicos normais, como a gravidez. Diante disto, os distúrbios tireoidianos são cinco vezes mais frequentes no sexo feminino quando comparado ao masculino.[2,10] Corroborando com isto, nosso estudo demonstrou uma prevalência maior destas doenças entre mulheres, como será discutido posteriormente.

Nesta pesquisa foi possível evidenciar uma maior prevalência de valores sorológicos de TSH e T4L compatíveis com aqueles de hipotireoidismo subclínico em mulheres, representando 67,8% do sexo feminino, enquanto 5,1% demonstraram a mesma patologia na forma clínica. Embora em número menor, os pacientes de sexo masculino apresentaram comportamento similar ao do feminino, tendo maior frequência de hipotireoidismo subclínico, com 71,4% dos pacientes, enquanto o subclínico esteve presente em 14,3% dos homens estudados. Estes dados estão de acordo com o descrito na literatura, sendo reportado que o hipotireoidismo é a disfunção hormonal de caráter patológico mais frequente, com prevalência maior entre mulheres, e sua incidência tende a aumentar em conjunto com a idade.[11]

Na Alemanha, um estudo realizado por Oral *et al.*[12] revelou uma elevada prevalência de hipotireoidismo subclínico entre mulheres pós-menopausa, sendo identificado em 73,8% das pacientes diagnosticadas com alguma doença subclínica da tireoide. Este valor está próximo dos encontrados em nosso estudo, sugerindo que a elevada frequência de hipotireoidismo subclínico observada no LAC-CESUPA pode estar relacionada com as faixas etárias mais avançadas que foram identificadas na presente pesquisa.

Verificando a prevalência de disfunções tireoidianas no Laboratório Clínico da Polícia Militar em Goiás, Ferreira *et al.*[1] evidenciaram uma prevalência de 10,5% para o hipotireoidismo subclínico entre mulheres, sendo a faixa etária mais acometida a de 40 a 49 anos de idade, mostrando percentual de 23,4%. Em menor frequência, esta mesma doença em sua forma clínica esteve presente apenas em 0,3% das mulheres, sendo mais frequente entre os 70 a 79 anos. Para homens, o hipotireoidismo subclínico apresentou frequência de 5,7%, acometendo em maior parte o grupo com idade entre 50 a 59 anos, representando 31,9% do sexo masculino. De maneira similar às mulheres, a forma clínica foi menos frequente entre homens, sendo identificada em apenas 0,2%, com maior frequência entre crianças de 7 a 11 anos, tendo uma prevalência de 50% entre elas.

Por se tratar de uma doença sistêmica com distúrbio no metabolismo celular e consequente comprometimento do funcionamento de vários órgãos, o hipotireoidismo acarreta

efeitos negativos em diversos processos essenciais do organismo. Estudos apontam uma relação dos hormônios T3, T4 e TSH na proliferação celular, no fechamento de feridas, na mineralização de ossos e na formação do tecido de granulação. Com a concentração destes hormônios alteradas, é notada uma aceleração em problemas cardiovasculares, indução à fragilidade óssea e período de inflamação prolongada, prejudicando a cicatrização de feridas e a regeneração tecidual.[13] Outras comorbidades relacionadas ao hipotireoidismo em sua forma subclínica incluem: perfil lipídico aterogênico, falência cardíaca, acidentes vasculares cerebrais e danos cognitivos.[11]

Quando comparado ao hipotireoidismo, o hipertireoidismo, tanto em sua forma clínica como subclínica, foi consideravelmente menos frequente em nosso estudo, estando presente apenas em 14,2% das mulheres e ausente nos homens, enquanto o perfil laboratorial compatível com a manifestação subclínica foi identificado em 11,4% e 11,9% entre homens e mulheres, respectivamente. Estudos epidemiológicos mostram que a prevalência do hipertireoidismo clínico varia de 0,2 a 1,3% em países com consumo suficiente de iodo. Em sua forma subclínica, estima-se que o hipertireoidismo tenha uma prevalência de 1% a 5%, porém esses dados podem ser tendenciosos por incluírem pacientes em uso de levotiroxina, podendo alterar resultados laboratoriais.[14]

Verificando a prevalência de disfunções tireoidianas entre pacientes que fazem uso do Sistema Único de Saúde no município de Sinop–MT, Romero *et al*.[15] identificaram que o hipertireoidismo representou 12,28% dos distúrbios tireoidianos, havendo maior frequência em mulheres (85,7%) do que em homens (14,28%), enquanto o hipotireoidismo foi o distúrbio mais presente. Embora os autores não tenham dividido a patologia em suas manifestações clínicas e subclínicas, nossa pesquisa mostrou um comportamento similar, tendo maior frequência de hiperfunção da tireoide entre mulheres quando comparado a homens.

De modo geral, entre os 385 pacientes do LAC-CESUPA aqui estudados, 66 (17%) apresentaram alguma disfunção tireoidiana, enquanto 319 (83%) apresentaram resultados compatíveis com um funcionamento normal da glândula. Diante disto, é importante levar em consideração que uma limitação deste trabalho foi não realizar a busca de dados de pacientes para identificar se ele já havia sido diagnosticado com alguma doença da tireoide e estava fazendo uso de algum tratamento medicamentoso. Logo, entre a população de estudo podem haver pessoas com distúrbios da tireoide apresentando dados laboratoriais indicando um funcionamento regular da glândula, assim interferindo nos resultados.

CONCLUSÃO

A pesquisa mostrou que os pacientes do LAC-CESUPA que realizaram as dosagens hormonais de TSH e T4L entre janeiro a março de 2019 apresentavam, em sua maioria, idades avançadas. Também foi notado um predomínio do sexo feminino, que apresentou uma procura maior quando comparado ao sexo masculino.

Entre as disfunções tireoidianas identificadas nos pacientes do estudo, o hipotireoidismo em sua forma subclínica foi o mais frequente, corroborando com dados da literatura e os consensos de tireoide aplicados no Brasil.

Entre o sexo feminino e o masculino, o hipotireoidismo subclínico mostrou-se mais frequente entre mulheres, permitindo assim supor uma relação das idades desses pacientes com os resultados laboratoriais, tendo em vista que o envelhecimento da glândula tireoide acarreta comprometimento de sua função.[10] Além disto, a elevada prevalência entre mulheres também pode estar relacionada à menopausa, especialmente àquelas de caráter autoimune, considerando as alterações hormonais que ocorrem nesse período.[16]

Embora tenha sido identificado um percentual significativo de pacientes considerados normais de acordo com seus parâmetros laboratoriais, esse resultado pode ter sofrido influência do uso de medicamentos, sendo essa uma limitação da presente pesquisa.

Neste contexto, levando em consideração as complicações sistêmicas que podem surgir como consequência de um distúrbio tireoidiano, a aplicação dos testes de TSH e T4L para triagem da função tireoidiana é de suma importância, sendo também recomendado sua aplicação em pacientes não portadores de doença, mas que possuem algum histórico de doença autoimune, como lúpus eritematoso e diabetes tipo 1.[17]

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Centro Universitário do Estado do Pará e o seu Laboratório de Análises Clínicas pelo fornecimento de dados e auxílio na elaboração deste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Ferreira FC, Costa SHN, da Costa IR. Prevalência de disfunções tireoidianas em pacientes atendidos no Laboratório Clínico do Hospital da Polícia Militar do Estado de Goiás no período de 2015 a 2016. Rev Bras Anal Clin, 2018; 50(1):57-64. doi: 10.21877/2448-3877.201800639.
2. Santos K, Pinto AB. Prevalência de alterações dos hormônios TSH e T4 livre em pacientes atendidos em um laboratório de análises clínicas do município de Carazinho, RS. Rev Bras Anal Clin, 2013; 45(1-4):45-8.

3. Barros ACS, Xavier EM, Reis IS, Carvalho PRB, Oliveira RS, Pacheco FK, et al. Farmacêutico bioquímico: uma abordagem voltada para o TSH e doenças da tireoide. Revista Saúde e Desenvolvimento Humano, 2018; 6(1):67-74. doi: 10.18316/sdh.v6i1.4186
4. Oliveira V, Maldonado RR. Hipotireoidismo e hipertireoidismo – Uma breve revisão sobre as disfunções tireoidianas. Interciência & Sociedade. 2014;3(2):36-44.
5. Abreu LA, Leite LT, Guimarães LF, Luiz IO, Ogiwara CST, Souza JHK de. Relevância do rastreio do hipotireoidismo na prática clínica. Braz J Surg Clin Res. 2016;15(1):39-45.
6. Carvalho GA de, Luhm Silva Perez C, Ward LS. Utilização dos testes de função tireoidiana na prática clínica. Arq Bras Endocrinol Metab. 2013;57(3):193-204.
7. Torres MRS, Ramos AJS, Brito CFP, Oliveira LB de, Macêdo LMA de. Prevalência de doença tireoidiana em pacientes com diabetes mellitus tipo 1. Revista Saúde & Ciência online. 2018;7(3):32-42.
8. Tomaz FDD, da Silva AM, Bissoli CF, Ferreira RCA, Fernandes WS. Prevalência de hipotireoidismo em idosos no município de Taubaté-SP. Revista Brasileira de Ciências da Saúde. 2016;20(3):235-40.
9. Cocolichio FM, Marmitt L, Avena L, Mello RBG. Tratamento do hipotireoidismo subclínico no idoso. Acta Méd. (Porto Alegre). 2013;34:1-5.
10. Medeiros GN. Instituto da Tireoide. Disponível em: www.indatir.org.br. Acessado em 05 de maio de 2020.
11. Veltri F, Rocha FO, Willems D, Praet JP, Grabczan L, Kleynen P, et al. Prevalence of thyroid dysfunction and autoimmunity in the older population and implications of age-specific reference ranges. Clin Chim Acta. 2017;465:34-9.doi: 10.1016/j.cca.2016.12.008
12. Oral E, Senturk LM, Hallac M, Edil E, Ertungealp E. Screening for thyroid disease at the menopause clinic. Climateric. 2002;5 suppl 1:162.
13. Neto LPM, Martin AA, Arisawa EAL. Efeitos do hipotireoidismo sobre a reparação tecidual. Revista Univap. 2017;23(43):85-101.
14. Taylor PN, Albrecht D, Scholz A, Gutierrez-Buey G, Lazarus JH, Dayan CM. et al. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. 2018;14:301-16. https://doi.org/10.1038/nrendo.2018.18.
15. Romero RK. Cavalcante KMH, Garcia FMP. Prevalence of thyroid and parathyroid disorders in the unified health system. Rev Enferm UFPE on line. 2014;8(6):1636-41. doi:10.5205/reuol.5876-50610-1-SM.0806201424.
16. Jasim S, Gharib H. Thyroid and aging. Endocrine Practice. 2018;24(4)369-74. doi:10.4158/EP171796.RA.
17. Valente O. Rastreamento diagnóstico das principais disfunções da tireoide. Diagn Tratamento. 2013;18(1):49-51.

Perfil epidemiológico do vírus influenza no estado de Pernambuco, no período de 2010 a 2019

Epidemiological profile of the influenza virus in the state of Pernambuco, from 2010 to 2019

Tayná Evily de Lima[1], Ana Cecilia Cavalcanti de Albuquerque[2], Jenyffer Sabryna Costa do Nascimento[1]

[1] Graduada - ASCES UNITA. Caruaru, PE, Brasil.

[2] Doutora - UFPE. Recife, PE, Brasil.

Resumo

Objetivo: O presente artigo se propõe a determinar o perfil epidemiológico do vírus influenza no estado de Pernambuco, no período de 2010 a 2019. *Métodos*: Os dados como sexo, idade, etnia, município de residência, gestação e número de casos de influenza, por ano, foram obtidos do Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL), que é alimentado pela Divisão de Virologia do Lacen-PE. Foram também avaliados os livros de registro do setor de influenza, para identificação dos tipos e subtipos mais prevalentes no estado. *Resultados*: Os resultados indicaram prevalência de 10,4% para influenza no estado de Pernambuco, no período de 2010 até a 34ª semana epidemiológica de 2019, com predomínio da influenza A/H1N1. A maioria dos infectados foi do sexo feminino, com baixo número de gestantes, e faixa etária abaixo de 10 anos. *Conclusão*: A positividade para influenza teve oscilação entre os anos estudados, que pode ser explicada devido a interferentes na sazonalidade. A imaturidade no sistema imunológico eleva o número de casos. A cobertura vacinal, principalmente em gestantes, esclarece o baixo número de infectadas neste grupo. Quanto maior o índice de aglomeração da região, maior a prevalência.

Palavras-chave: Vírus da Influenza A; Vírus da Influenza B; /epidemiologia; Prevalência

Abstract

Objective: This article aims to investigate the epidemiological profile of Influenzavirus in the State of Pernambuco, from 2010 to 2019. *Methods*: Data such as gender, age, ethnicity, municipality of residence, pregnancy and number of influenza cases per year were learned from the Laboratory Environment Manager (GAL) which is powered by the Virology division of Lacen-PE. Influenza sector registry books were also evaluated to identify the most prevalent types and subtypes in the state. *Results*: The results indicated a prevalence of 10.4% for Influenza in the State of Pernambuco, in the period from 2010 to the 34th epidemiological week of 2019, with a predominance of Influenza A/H1N1. Most of those infected were female, with low number of pregnants, and age group under 10 years. *Conclusion*: The positivity for Influenza fluctuated between the years studied, which can be explained by interfering with seasonality. Immaturity in the imune system increases the number of cases. Vaccination coverage, especially in pregnant women explains the low number of infected in this group. The greater agglomeration index in the region, the greater the prevalence.

Keywords: Influenza A virus; Influenza B virus; /epidemiology; Prevalence

Correspondência
Jenyffer Sabryna Costa do Nascimento
E-mail: jenyffer_100@hotmail.com

Recebido em 30/08/2021 | Aprovado em 07/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202180

INTRODUÇÃO

A influenza é uma doença respiratória aguda febril e altamente contagiosa, que causa surtos anuais em todo o mundo, principalmente durante o outono e o inverno, afetando pessoas de todas as idades e causando doenças leves, graves ou até mesmo óbitos.[1] Cerca de 3 a 5 milhões de pessoas apresentam a forma grave da infecção, e desses 250 a 500 mil morrem todo ano. No Hemisfério Norte a influenza mantém-se nos níveis esperados anualmente, ao passo que no Hemisfério Sul sua incidência vem decaindo, porém ainda afetando muitas pessoas.[1,2] Atualmente são conhecidos quatro gêneros do vírus influenza: A, B, C e D, sendo que A e B são os causadores de problemas respiratórios em seres humanos.[3] O vírus influenza A apresenta maior variabilidade e por isso é dividido em subtipos de acordo com as diferenças de suas glicoproteínas de superfície, denominadas hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA).[4]

O genoma do vírus da influenza consiste em um RNA de fita simples segmentado que codifica proteínas não estruturais e estruturais, da qual podemos destacar as glicoproteínas virais hemaglutinina e neuraminidase, que são significativamente antigênicas e variáveis.[3] A variação antigênica maior desenvolve-se apenas no tipo A, porque devido seus processos de adaptação para sobrevivência durante a infecção no hospedeiro, levam ao surgimento de novas classes. Já foram identificados 18 tipos de HA e 11 tipos de NA em diferentes espécies de animais, sendo N1 e N2 e H1, H2 e H3 as principais capazes de infectar seres humanos.[5]

No Brasil há circulação dos vírus A e B, principalmente dos subtipos A/H1 sazonal, A/H3 sazonal e A (H1N1) pdm09. De 2013 a 2019, a Gripe A foi a mais frequente, diagnosticada em 77% a 90% dos pacientes com infecções respiratórias agudas graves. Em relação à letalidade, no mesmo período, a Gripe A apresentou uma incidência maior, resultando em 19% de mortes, enquanto as infecções pela Gripe B causaram 10% de mortes.[6] A vigilância epidemiológica para infecções por vírus influenza atua por meio de notificação dos casos de síndrome respiratória aguda grave (SRAG), diretamente para o Ministério da Saúde, que é obrigatória e deve ser feita de forma imediata. Além disso, deve ser coletada a amostra do paciente para que seja pesquisado qual vírus está provocando o quadro.[7]

Diante da quantidade de pessoas que são anualmente infectadas pelo vírus influenza e sua capacidade de comprometimento da saúde dos pacientes, assim como pela falta de dados na literatura nacional em relação a dados epidemiológicos do vírus da influenza no estado de Pernambuco, o objetivo do trabalho é determinar o perfil epidemiológico do vírus influenza no que se refere ao número de infecções, tipo do vírus e principais cepas identificadas no estado de Pernambuco, nos últimos 10 anos.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho realizado foi do tipo quantitativo transversal descritivo, em que foram analisados dados de pacientes cujas amostras tiveram diagnóstico de influenza pelo Laboratório Central de Saúde Pública, Dr. Milton Bezerra Sobral (Lacen–PE), no período de 2010 a Semana Epidemiológica (SE) 34 de 2019. Os dados foram obtidos por meio do Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL), que consiste em uma plataforma do Ministério da Saúde, alimentado pela Divisão de Virologia do Lacen–PE, quando se refere à pesquisa de infecção viral no estado de Pernambuco. Além disso foram avaliados os livros de registro do setor de Influenza, da Divisão de Virologia.

A Divisão de Virologia do Lacen–PE recebe a ficha de notificação do paciente, juntamente com sua amostra biológica, *swab* combinado nasal e de orofaringe ou lavado bronco alveolar. A amostra é submetida à técnica de imunofluorescência e da reação em cadeia da polimerase (PCR), para pesquisa de vírus respiratórios. Baseado nas informações fornecidas pelo GAL e pelas fichas de notificação, as variáveis avaliadas foram: sexo, idade, raça, município de residência, gestação, número de casos no período, número de casos por ano e cepa viral.

Os dados gerados pela plataforma e os livros de registro foram armazenados e avaliados pelo Excel, sendo submetidos à análise de percentual simples, para desenvolvimento de gráficos e tabelas.

ÉTICA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA), sob o protocolo n. 2.942.382. Durante toda a pesquisa foram seguidos os aspectos éticos contidos na Resolução n. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

RESULTADOS

A Figura 1 mostra os 10.646 casos avaliados pela Divisão de Virologia do Lacen–PE, no período de 2010 até a SE 37

de 2019. Dessas, 1.108 foram amostras positivas para o vírus influenza, sendo encontrada uma prevalência de 10,4%. O ano de 2018 pode ser destacado pelo maior número de casos, apresentando 29,5% (n=327) das amostras positivas.

A caracterização das amostras reativas ou detectáveis para influenza, por meio de idade, etnia, sexo, presença de gestão e procedência das amostras, está descrita na Tabela 1. A faixa etária com 56,6% (n=628) foi de crianças com idade abaixo de 10 anos. Com relação ao sexo, 51% (n=564) dos casos eram do sexo feminino, e dessa porcentagem 3% (16/564) estavam gestantes. A infecção teve uma maior prevalência em pessoas de etnia parda, representando 27,7% (n=307) das amostras positivas. Porém é relevante destacar que 65,6% (n=727) das amostras, a etnia não foi informada, devido o preenchimento incompleto da ficha dos pacientes.

As amostras para o diagnóstico de influenza procederam de diferentes municípios pernambucanos, que foram segregados de acordo com as mesorregiões do estado. A Região Metropolitana de Recife apresentou 85,2% (n=944) dos casos positivos para o vírus influenza nos últimos dez anos.

A Tabela 2 mostra o tipo de influenza que apresentou mais casos positivos, sendo a influenza A com 70,3% (n= 759) das amostras detectáveis para esse vírus. Destes, 50% eram H1N1 e 44,5% eram H3N2. Além disso, 5,4% (n=41) das amostras da influenza A não tiveram seus subtipos determinados. A influenza B apresentou 29,7% (n=321) dos casos positivos no período avaliado. Importante destacar que em 2017 a amostra de um paciente de 11 meses de idade foi positiva para influenza A (H3N2) e influenza B simultaneamente e em 2018 foram também detectados os subtipos H3N2 e H1N1 em uma única amostra de uma paciente com 1 ano de idade.

DISCUSSÃO

A infecção de seres humanos pelo vírus influenza sazonal é um problema de saúde pública, tendo em vista a carga econômica gerada em todo o mundo como, também, a alta morbidade e mortalidade dos infectados.[8,9] O mecanismo mais eficiente na diminuição da influenza é a vacinação, tendo em vista que essa estratégia evita infecções devido a imunização prévia, reduzindo consideravelmente as formas graves e óbitos, principalmente de idosos.[10-12]

Podemos observar no referido estudo que o número de casos positivos para influenza teve bastante oscilação de um ano para o outro, fato característico das infecções não apenas pelo vírus influenza, mas também de outros vírus respiratórios, já que sua sazonalidade pode sofrer interferência de fatores como fisiologia do hospedeiro, comportamento social e variações ou anormalidades climáticas.[13,14] O estudo de Tamerios[15,16] observou que regiões de clima temperado, como a América do Sul, têm um pico epidêmico de influenza durante os períodos com maior umidade e precipitação, o que além de facilitar a propagação do vírus exige mudanças

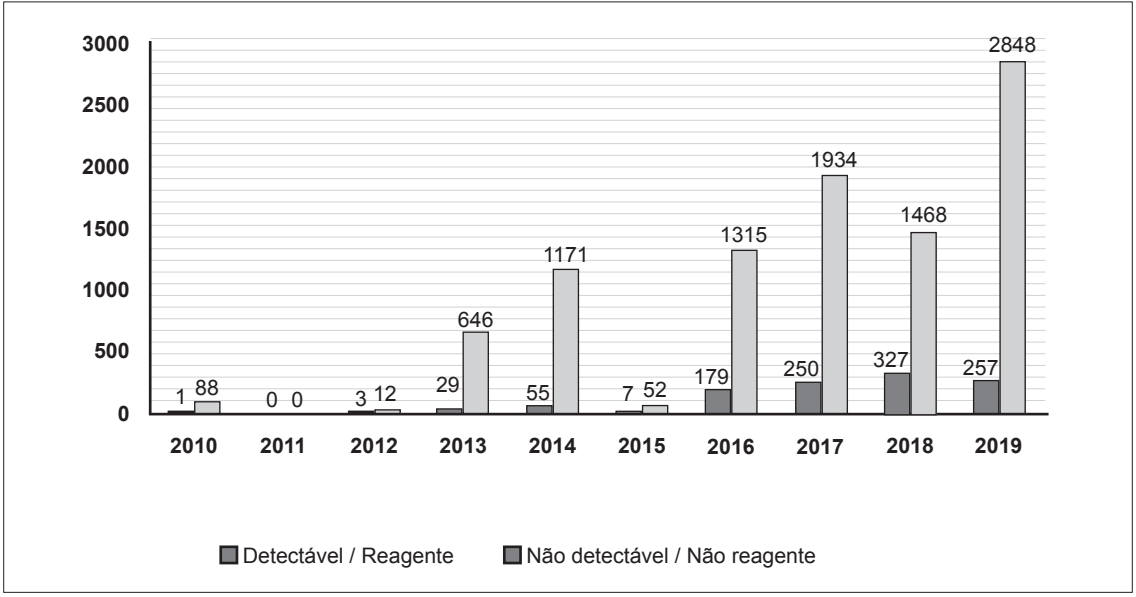


Figura 1

Distribuição dos casos notificados e confirmados de influenza no estado de Pernambuco, no período de 2010 a SE 34 de 2019.

Tabela 1

Caracterização da população positiva para o vírus influenza no estado de Pernambuco, no período de 2010 a SE 34 de 2019.

Variáveis	Total (N)	Total (%)	Variáveis	Total (N)	Total (%)
Idade (anos)			**Etnia**		
< 10	628	56,6	Negra	6	0,5
10-20	128	11,5	Amarela	12	1,0
20-40	145	13,0	Parda	307	27,7
40-60	112	10,4	Branca	101	9,1
>60	95	8,5	Não informado	727	65,6
Sexo			**Procedência**		
Feminino	564	51,0	Sertão Pernambucano	30	2,7
Masculino	544	49,0	São Francisco Pernambucano	25	2,2
Gestação			Agreste pernambucano	51	4,6
Sim	16	3	Mata Pernambucana	58	5,3
1º Trimestre	4	25	Metropolitana de Recife	944	85,2
2º Trimestre	7	44			
3º trimestre	5	31			
Não	548	97			

Tabela 2

Distribuição dos tipos e subtipos do vírus influenza no estado de Pernambuco, no período de 2017 a SE 34 de 2019.

Ano	Influenza A		Influenza A/H3N2		Influenza A/H1N1		Influenza B	
	N	%	N	%	N	%	N	%
2014	37	3,4	33	4,3	0	0	22	2,0
2015	8	0,7	7	0,9	0	0	15	1,3
2016	141	13,0	3	0,4	126	16,6	40	3,7
2017	151	14,0	151	20,0	0	0	90	8,3
2018	283	26,2	123	16,2	160	21,0	79	7,4
2019	139	12,9	21	2,7	94	12,4	75	7,0
Total	759	70,3	338	44,5	380	50,0	321	29,7

nos hábitos sociais, levando à institucionalização das pessoas. Consequentemente, esse pode ser o fator que desencadeou o maior número de casos positivos para influenza em 2018, visto que, segundo o Instituto Nacional de Meteorologia, nesse ano, o inverno no estado de Pernambuco teve fortes chuvas e alta umidade.[17]

O estudo de prevalência de vírus respiratório de Magalhães[18] corroborou com o referido trabalho, pois os pacientes infectados por influenza tinham idade inferior a 10 anos, condição decorrente da imaturidade do sistema imunológico durante a primeira infância. Daí a importância da vacinação desse grupo, como também do acompanhamento da cobertura vacinal na erradicação de doenças infecciosas.[19] A meta de cobertura para vacina contra influenza, no Brasil, é de 90%, para a população que apresenta maiores riscos de complicações, mas essa meta não é alcançada por todos os grupos de risco. Pernambuco foi um dos estados brasileiros a alcançar, e em alguns anos ultrapassar, a meta de vacinação de gestantes contra o influenza, o que explica baixo número de casos positivos em gestantes nos últimos nove anos.[20,21]

Estudo realizado em Minas Gerais observou uma maior prevalência de influenza em indivíduos do sexo masculino, durante o período de 2010 a 2014, o que não corrobora com a nossa pesquisa, que apresentou maior número de casos positivos em pessoas do sexo feminino[22]. Nesse sentido, em relação à etnia não foi encontrada nenhuma evidência na literatura internacional e nacional que correlacione maior risco de infecção ou complicações causadas pelo vírus influenza. O predomínio da etnia parda no presente estudo ocorre em razão de a população pernambucana ser majoritariamente parda, segundo informações fornecidas pela Base de Dados do Estado.[22]

Geograficamente, nas Regiões Sul e Sudeste foi observado que os casos positivos para o vírus influenza estavam concentrados nas grandes áreas metropolitanas,[23] reforçando os dados obtidos no nosso estudo, que teve uma concentração massiva dos casos na Região Metropolitana de Recife. Possivelmente esse fato está relacionado ao estilo de vida urbano, que possui maior aglomeração de pessoas compartilhando dos locais de trabalho, transportes públicos e instituições de ensino, quando comparado às outras cidades no interior do Estado.

O trabalho de Finkelman[24] estudou o subtipo de influenza A mais comum em 19 países e concluiu que o influenza A/H3N2 é predominante, não corroborando com esse estudo, que teve uma prevalência das infecções causadas por influenza A/H1N1. Possivelmente o resultado da referida pesquisa é reflexo do predomínio de influenza A/H1N1 nos últimos 10 anos no Brasil.[25] O influenza A/H3N2 apenas apresentou maior prevalência nos anos de 2014, 2015 e 2017, segundo os dados presente nos Boletins Epidemiológicos da Influenza.[26-28]

Por possuir seu genoma segmentado, além da alta capacidade de mutação, o vírus influenza consegue trocar segmentos de RNA com outros vírus influenza que são genotipicamente diferentes, pelo processo denominado de ressortimento.[29] Esse processo pode ocorrer quando há uma infecção simultânea de subtipos ou espécies diferentes do vírus influenza, como foi identificado no atual trabalho, causando uma reconfiguração do vírus no interior do hospedeiro, resultando na formação de novas cepas ou até mesmo novos subtipos. O desenvolvimento de novos vírus influenza já ocasionou cerca de três pandemias ocorridas no século XX, sendo a mais recente em 2009. As mutações sofridas pelo novo vírus podem potencializar a capacidade de transmissão e danos ao hospedeiro, gerando grandes problemas de saúde pública.[30]

CONCLUSÃO

O clima tem influência direta na sobrevida do vírus, na eficiência da transmissão e na suscetibilidade do hospedeiro, por isso as epidemias têm tendência a ocorrer após mudanças nos padrões climáticos, como por exemplo a estação de chuvas. A prevalência do vírus é encontrada em maior número em indivíduos do sexo feminino. Em relação à idade, devido a suscetibilidade do sistema imunológico imaturo de indivíduos na primeira infância (idade abaixo de 10 anos), neles encontra-se maior prevalência do vírus influenza. Visto que a população pernambucana é majoritariamente parda, a prevalência da influenza é observada nesta por consequência, sendo o tipo A subtipo H1N1 de maior predominância. A concentração de casos na Região Metropolitana da capital Recife está relacionada à maior aglomeração de pessoas.

SUPORTE FINANCEIRO

Os autores do trabalho custearam todas das despesas desta pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Laboratório Central de Saúde Pública, Dr. Milton Bezerra Sobral (Lacen–PE), pelos acessos aos dados necessários para o desenvolvimento do estudo.

REFERÊNCIAS

1. Misra RS, Nayak JL. The Importance of Vaccinating Children and Pregnant Women against Influenza Virus Infection. Pathogens 2019, dec., 8(4):265.
2. Rotrosen ET, Neuzil KM. Influenza: A Global Perspective. Pediatric. theclinics.com 2017, 64: 911-936.
3. Krammer F, Smith GJD, Fouchier RA, Peiris M, Kedzierska K, Doherty PC, Palese P, Shaw ML, Treanor J, Webster RG, García-Sastre A. Influenza. Natures Reviews Disease Primers 2018, 4:1-21.
4. Klemm C, Boergeling Y, Ludwig S, Ehrhardt C. Immunomodulatory Nonstructural Proteins of Influenza A Viruses. Thends in Microbiology 2018, jul., 26(7):624-636.
5. Camone P. Diversidade genética da hemaglutinina virus influenza A, entre 1995 a 2006. Dissertação (mestrado em biotecnologia). Universidade de São Paulo; 2011.
6. Lapinscki B, Pereira LA, Nogueira NB, Vidal LR, Riediger I, Debur MC, Presibella M,Raboni SM. Molecular epidemiology of influenza B virus and implications in immunization strategy, Southern Brazil. Vacinne 2018, jan., 36 (1): 107-113.
7. Secretaria Estadual de Saúde. SES Reforça a Importância de Notificar Influenza. Acesso em 15/06/2018. Disponível em: http://portal.saude.pe.gov.br/noticias/secretaria-executiva-de-vigilancia-em-saude/ses-reforca-importancia-de-notificar-influenza.

8. World Health Organization. Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire. Weekly Epidemiol Rec. 2012, 47:461-476.
9. World Health Organization. Influenza (Seasonal). Acesso em 15/06/2020. Disponível em: https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal).
10. Preaud E, Durand L, Macabeo B, Farkas N, Sloesen B, Palache A, Shupo F, Samson SI. Annual public health and economic benefits of seasonal influenza vaccination: a European estimate. BMC Public Health 2014; 14:813.
11. Luna EJA, Gattás VL, Campos SRSLC. Efetividade da estratégia brasileira de vacinação contra influenza: uma revisão sistemática. Epidemiol Serv Saúde 2014; 23:559-76.
12. Ekkat-Berkani R, Wilkinson T, Buchy P, Dos Santos G, Stefanidis D, Devaster J, et al. Sea-sonal influenza vaccination in patients with COPD: a systematic literature review. BMC Pulm Med 2017; 17:79.
13. Bacurau AGM, Francisco PMSB. Prevalência de vacinação contra gripe nas populações adulta e idosa com doença respiratória pulmonar crônica. Cad. Saúde Pública 2018; 34(5).
14. Dowell SF. Seasonal variation in host susceptibility and cycles of certain infectious diseases. Emerg Infect Dis 2001; 7:369-374.
15. Tamerius J, Nelson MI, Zhou SZ, Viboud C, Miller MA, et al. Global influenza seasonality: reconciling patterns between temperate and tropical regions. Environ Health Perspect 2011, 119:439–445.
16. Tamerius JD, Shaman J, Alonso WJ, Bloom-Feshbach K, Uejio CK, Comrie A, Viboud C. Environmental Predictors of Seasonal Influenza Epidemics across Temperate and Tropical Climates. PLoS Pathog 2013; Mar; 9(3).
17. Instituto Nacional de Meteorologia. Prognóstico Climático de Inverno. Acesso em: 22/06/2020. Disponível em: http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=noticia/visualizarNoticia&id=133.
18. Magalhaes EF, Beraldo CL, Vieira ALP, Mendonça ALPS, Teixeira DV, Rocha EA, Barros RO. Análise da prevalência de vírus respiratórios em crianças atendidas em um hospital universitário do sul de Minas Gerais. Rev Med Minas Gerais 2017; 27:e-1870.
19. Bekkat-Berkani R, Wilkinson T, Buchy P, Santos GD, Stefanidis D, Devaster JM, Meyer N. Seasonal influenza vaccination in patients with COPD: a systematic literature review. BMC Pulm Med 2017; 17:79.
20. Ministério da Saúde. 20ª Campanha Nacional de Vacinação contra a Influenza. Acesso em 22/06/2020. Disponível em: http://portalarquivos2.saude.gov.br.
21. Ministério da Saúde. 21ª Campanha Nacional de Vacinação contra a Influenza. Acesso em 22/06/2020. Disponível em: http://portalarquivos2.saude.gov.br.
22. Base de Dados do Estado. População residente, por cor ou raça, situação e sexo –Pernambuco. Acesso em: 21/06/2020. Disponível em: http://www.bde.pe.gov.br.
23. Codeço CT, Cordeiro, Lima AWS, Colpo RA, Cruz OG, Coelho FC, Luz PM, Struchiner CJ, Barros FR. A onda epidêmica da gripe A (H1N1) no Brasil, 2009. Cad. Saúde Pública 2012, 28(7):1325-1336.
24. Finkelman BS, Viboud C, Koelle K, Ferrari MJ, Bharti N, Grenfell BT. Global Patterns in Seasonal Activity of Influenza A/H3N2, A/H1N1, and B from 1997 to 2005: Viral Coexistence and Latitudinal Gradients. PLoS One. 2007; 2(12): e1296.
25. Secretaria de Vigilância em Saúde. Informe técnico de Influenza: Vigilância da Síndrome Respiratória Aguda Grave, Síndrome Gripal e de internações. Acesso em: 20/07/2020. Disponível em: http://www.saude.gov.br.
26. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico do Influenza: Monitoramento até a Semana Epidemiológica 47 de 2017. Acesso em: 20/07/2020. Disponível em: http://www.saude.gov.br.
27. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico do Influenza: Monitoramento até a Semana Epidemiológica 40 de 2018. Acesso em: 20/07/2020. Disponível em: http://www.saude.gov.br.
28. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico do Influenza: Monitoramento até a Semana Epidemiológica 49 de 2019. Acesso em: 20/07/2020. Disponível em: http://www.epi.uff.br/.
29. Vergaraalert J., Busquets N., Ballester M., Chaves AJ, Rivas R., Dolz R., Wang Z., Pleschka S., Majó N., Rodríguez F. The NS segment of H5N1 avian influenza viruses (AIV) increases the virulence of an A7 H7N1 in chickens.Veterinario Res 2014, 45.
30. Shao W, Li X, Ullah M, Wang GS, Chen JL. Evolution of Influenza A Virus by Mutation and Re-Assortment. Int J Mol Sci. 2017, aug., 18(8): 1650.

Anti-SARS-CoV-2 enzyme immunoassays evaluation: Diagnostic characteristics and detection of cross-reactivity in Brazilian samples

Avaliação de imunoensaios enzimáticos anti-SARS-CoV-2: características diagnósticas e detecção de reatividade cruzada em amostras brasileiras

Lucas Bochnia-Bueno[1], Sergio Monteiro De-Almeida[2], Meri Bordignon Nogueira[2], Sonia Mara Raboni[1]

[1] Universidade Federal do Paraná, Laboratório de Virologia - Curitiba – Paraná e Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia. Curitiba, PR, Brasil.

[2] Universidade Federal do Paraná, Laboratório de Virologia. Curitiba, PR, Brasil.

Abstract

Introduction. To assess the diagnostic performance of Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISA) of three different manufacturers (ERBALisa® COVID-19 IgM/IgG; Biolisa COVID-19 IgM/IgG; and Allserum EIA COVID-19 IgM/IgG) to identify SARS-CoV-2 antibodies, comparing with the molecular test or clinical defined SARS-CoV-2 infection. Methods. In an experimental study, 105 serum samples were randomly selected by convenience and distributed in five groups. Results. Overall, there was fair heterogeneity in the performance of IgM and IgG antibodies among the manufacturers. The best measures were for the Allserum test: sensitivity (70.37%; 95%CI, 56.39-82.02%); specificity (97.44%; 86.52-99.94%); Diagnostic Odds Ratio (90.25; 11.39-715.04); accuracy (81.72%; 72.35-88.98%); and Matthews Correlation coefficient 0.57, in IgM and IgG results combination. Discussion. ERBALisa IgM test showed the highest percentage of cross-reactivity with positive sera for other diseases, consequently, the lower specificity (76.92%) compared to the other two tests evaluated. Conclusion. These ELISA tests cannot replace molecular diagnostics in acute-care settings, but should only be used as an additional screening tool when the improvement of hospital logistics is expected and their limitations are carefully considered.

Keywords: SARS-CoV-2; Serology; False Positive Reactions

Resumo

Introdução. Avaliar o desempenho diagnóstico de Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISA) de três fabricantes diferentes (ERBAlisa® COVID-19 IgM/IgG; Biolisa COVID-19 IgM/IgG; e Allserum EIA COVID-19 IgM/IgG) para identificar SARS- Anticorpos CoV-2, comparando com o teste molecular ou infecção por SARS-CoV-2 definida clinicamente. Métodos. Em um estudo experimental, 105 amostras de soro foram selecionadas aleatoriamente por conveniência e distribuídas em cinco grupos. Resultados. No geral, houve uma heterogeneidade razoável no desempenho de anticorpos IgM e IgG entre os fabricantes. As melhores medidas foram para o teste Allserum: sensibilidade (70,37%; IC 95%, 56,39-82,02%); especificidade (97,44%; 86,52-99,94%); Razão de probabilidades de diagnóstico (90,25; 11,39-715,04); precisão (81,72%; 72,35-88,98%); e coeficiente de correlação de Matthews 0,57, na combinação de resultados de IgM e IgG. Discussão. O teste ERBAlisa IgM apresentou o maior percentual de reatividade cruzada com soros positivos para outras doenças, consequentemente, a menor especificidade (76,92%) em relação aos outros dois testes avaliados. Conclusão. Esses testes ELISA não podem substituir o diagnóstico molecular em ambientes de cuidados agudos, mas devem ser usados ??apenas como uma ferramenta de triagem adicional quando a melhoria da logística hospitalar é esperada e suas limitações são cuidadosamente consideradas.

Palavras-chave: SARS-CoV-2; Sorologia; Reações Falso-Positivas

Correspondência
Lucas Bochnia-Bueno
E-mail: lucas.buenoo@hotmail.com

Recebido em 07/12/2021 | Aprovado em 06/07/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200007

INTRODUCTION

The SARS-CoV-2 pandemic presents many significant diagnostic challenges because it is a new pathogen.[1] Serology tests to detect the presence of antibodies to SARS-CoV-2 aim to identify the previous infection, and to confirm the presence of current infection.[1] SARS-CoV-2 serology testing relies on targeted antibodies binding to SARS-CoV-2 specific antigens.

This study aimed to assess the diagnostic performance of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) of three different manufactures and compare them with molecular test (definite) or the clinical defined test (probable) in individuals with SARS-CoV-2 infection.

METHODS

The samples consisted of serum specimens sent to the Virology Laboratory, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR), Brazil. Immunological and RT-qPCR for SARS-CoV-2 assays were performed in the HC-UFPR virology laboratory, certified by the Health Secretary of Paraná, Brazil. This study was approved under a waiver of informed consent by the HC-UFPR institutional review board, Brazil (CAAE: 30578620.7.0000.0008).

Patients admitted to the HC-UFPR between March 1st and August 7th, 2020, were eligible if they had respiratory symptoms suspicious of COVID-19. The performances of the three different ELISAs were evaluated in serum samples obtained on corresponding dates that respiratory specimens were collected for molecular test. A total of 105 serum samples were randomly selected for convenience and distributed in the following groups:

Group with SARS-CoV-2 (COVID-19, n=66)

Group 1 (G1): Definite SARS-CoV-2 infection (n= 54), patients who tested positive for SARS-CoV-2 on RT-qPCR from nasopharyngeal samples. Participants admitted to the hospital COVID-19 unit or intensive care unit (ICU), n=23 (42.59%); outpatients (n=31; 57.41%); male 27 (50%); median (IQR) of age was 48.48 (44.14; 52.81) years old; time after symptoms onset 15.67 (13.20; 18.14) days. Two participants (3.7%) were asymptomatic.

Group 2 (G2): Probable SARS-CoV-2 infection (n= 12), patients who tested RT-qPCR negative for SARS-CoV-2 on nasopharyngeal samples, but fulfilled the World Health Organization (WHO) clinical diagnostic case definitions for SARS-CoV-2.[2] All participants admitted in the hospital COVID-19 unit or intensive care unit (ICU); male 6 (50%); median (IQR) of age was 61.5 (47.5, 74.5) years old; time after symptoms onset 11 (7.5; 19) days.

Group with other diseases (n= 23), or RT-qPCR for SARS-CoV-2 on nasopharyngeal samples negative

Group 3 (G3): Severe acute respiratory syndrome (SARS), RT-qPCR for SARS-CoV-2 on respiratory samples were either negative or did not fulfill the WHO case definitions for SARS-CoV-2[2] or other etiologies were identified (n= 14).

Group 4 (G4): Other viruses were identified (n= 9), by RT-qPCR on a nasopharyngeal swab tested against a respiratory virus panel, Rhinovirus (n=7) and Coronavirus 229e/NL63 (1 case). The ninth case was positive for Mycobacterium tuberculosis and was included in this group because it also affects the respiratory tract.

Healthy control, n=16

Group 5 (G5): Serum samples from 16 blood donors were collected in 2015 (HIV, HCV, HBV, HTLV I/II, syphilis, and Chagas disease negative, and without respiratory symptoms). This group was not tested for SARS-CoV-2 by RT-qPCR as the samples were taken before the emergence of the virus in China[2] and was the available samples for the analyses.

Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISAs)

The kits used were ERBALisa® COVID-19 IgM/IgG (Calbiotech, El Cajon, CA, USA); Biolisa COVID-19 IgM/IgG (Bioclin, Quibasa, Brazil); and Allserum EIA COVID-19 IgM/IgG (MBiolog, Minas Gerais, Brazil), all of them were capture reaction to detect SARS-CoV-2 IgM or IgG in serum/plasma samples. All blood samples were centrifuged and kept frozen at least -20ºC until the moment of use. Multiple thawing cycles were avoided. These were thawed once for analysis and kept refrigerated until complete analysis. Samples with a pattern of hemolysis were noted.

Samples were tested in parallel in the three assays. The tests were performed in duplicate at room temperature according to the manufacturer's instructions. The number of samples tested on each day was previously divided so that each analysis presented samples from the five groups, avoiding the segregation of any possible error. Each group of samples was kept refrigerated at approximately 4ºC in the period between the IgM analysis and the IgG analysis, this period being up to 24 hours.

For all tests, the recommended dilution (1:101 for Biolisa and Allserum; 1:21 for ERBALisa) of samples were performed and 100µL of the diluted was pipetted into the respective reaction well. After following incubation and washing steps, the sample was read in the proper spectrophotometer for reading ELISA tests in the wavelengths of 450nm and 640nm. The index value was calculated as recommended by the manufacturer. Index values for both immunoglobulins, less than 0.79 represented negative samples, while index values between 0.80 and 1.09 represented indeterminate samples, and index values superior than 1.10 represented positive samples.

RT-qPCR for SARS-CoV-2

Nasopharyngeal samples were collected with a rayon swab and transported immediately to the virology laboratory in a viral transport medium (VTM). The RT-qPCR was previous carried using the XGEN-Master COVID-19 (XGEN) for the qualitative detection of nucleic acid in RT-qPCR format-reverse transcription, followed by amplification of a conserved region of the ORF1ab and N genes for SARS-CoV-2.[3] using specific primers and a fluorescence-labeled probe in respiratory samples.

Statistical Analyses

Statistical tests were performed using the GraphPad Prism version 9.0.0, in which quantitative data were submitted to a non-parametric t-test (Mann-Whitney), and qualitative data were analyzed using the Chi-square test, as appropriated. Values of $p<0.05$ were set as statistically significant. Duplicates that showed a coefficient of variation greater than 20.0% were disregarded and repeated. Receiver operating characteristics (ROC) curves were constructed to assess the kits' overall diagnostic information by comparing the areas under the curve (AUC).

Operational characteristics of the tests were evaluated for each kit. The RT-qPCR for SARS-CoV-2 was the reference method. We analyzed together with the diagnostic performance for the detection of IgM, IgG, IgM and/or IgG antibodies in each test. The analyzes were performed using the MedCalc platform (https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php), considering different gold standard scenarios: (1) Definite disease and (2) Definite disease + Probable disease.

The following clinical performance measures were calculated: sensitivity; specificity; accuracy (efficiency); positive and negative predictive values (PPV, NPV); Youden index;[4] positive and negative clinical utility index (CUI+, CUI–). The CUI values were classified as follows: excellent, ≥0.81; good, ≥0.64; fair, ≥0.49; poor, ≤0.49; and very poor, ≤0.36.[5,6] We calculated the positive and negative likelihood ratio (LR+, LR–) and diagnostic odds ratio (DOR), in which an LR+ value ≥ 10.0 indicates that a positive test almost confirmed the disease, a value of ~6.0 indicates that the disease was present, and a value of ~1.0 indicates that the test was not able to show whether the disease was present or not. An LR+ value ≤ 0.1 indicates that the disease was practically absent.[7,8] We carried out the comparison of concordance and discordance proportions of the different kits with the Matthews Correlation Coefficient, which is a value between −1 and +1, values close to +1 describes a perfect prediction, values close to 0 does not give any valid information and values close to -1 represent a complete inconsistency between prediction and outcome.

Positive rates and levels of agreement between the kits were assessed using Cohen's Kappa coefficients of agreement, which is interpreted as follows: values ≤ 0 as indicating no agreement (i.e., purely random), 0.01-0.20 as none to slight, 0.21-0.40 as fair, 0.41- 0.60 as moderate, 0.61-0.80 as substantial, and 0.81-1.00 as almost perfect agrément.[9]

RESULTS

The groups with definite and probable SARS-CoV-2 infection were comparable regarding time to onset of symptoms and age.

Operational characteristics of ELISAs

Overall, the analysis of the tests showed acceptable sensitivity; ERBALisa presented the best sensitivity result in IgM and combined tests, despite being the test with less accuracy. However, the Biolisa and Allserum tests showed lower sensitivity values in the combined analysis (Figure 1A). Biolisa and Allserum presented higher specificity (Figure 1B) and accuracy, with less extended 95% confidence intervals (Table 1).

Considering IgG + IgM or IgM or IgG for the diagnoses of definite or probable SARS-CoV-2 infection, the three kits showed fair diagnostic performance characteristics. The higher sensitivity was for ERBALisa in the IgM and IgG combination results (IgM+IgG), the accuracy was similar for ERBALisa, Biolisa and Allserum. Diagnostic specificity was 100% for the Allserum (IgG). LR+ was closer than 30 for the Allserum (IgG - G1 vs. G3+G4+G5), indicating a positive test almost

confirm the SARS-CoV-2 infection. The highest DOR was seen in IgG and IgM+IgG from the Allserum test (Table 1).

For the RT-qPCR+ group (G1), the sensitivity and accuracy were higher for all the brands evaluated. Although for the probable SARS-CoV-2 infection (RT-qPCR negative), all of them showed a limited value for IgM and IgG, but high specificity (Table 1).

Concerning the detection of IgM for the diagnoses of definite or probable SARS-CoV-2 infection, ERBALisa and Biolisa displayed higher sensitivity and accuracy, respectively. Only ERBALisa showed lower diagnostic specificity for IgM detection (Table 1). Concerning the detection of the IgG for SARS-CoV-2, the sensitivity was fair, although it had high specificity; the Biolisa and Allserum showed similar diagnostic performance characteristics (Table 1).

Two participants (3.7%) at G1 were asymptomatic and were positive for SARS-CoV-2 RT-qPCR; only one of them tested positive for IgM in all brands, the other tested negative for IgM in ERBALisa and Allserum, and undetected in Biolisa. The IgG was positive in all assays performed in both cases.

Uncorrelated ROC curves IgM (Figure 2A) and IgG (Figure 2B) were generated using data from different groups of patients (G1 vs. G3+G4+G5 or G1+G2 vs. G3+G4+G5 or G2 vs. G3+G4+G5) where patients within each group are subjected to other diagnostic tests, as RT-qPCR; the results are shown in Table 2.

The agreement between ELISA kits by the Cohen's Kappa was almost perfect only between the Biolisa and Allserum kits (index: 0.81-1.00) under IgM, IgG, and IgM or IgG comparison (Table 3).

Analytical specificity (cross-reaction)

For the IgM tests, ERBALisa cross-reacted with 7 samples (2 Dengue virus, 1 Syphilis, 1 Rhinovirus, 1 multiple infection - HIV, hepatitis A and B -, and 2 healthy group samples) resulting in analytical specificity equal to 76.92%; Biolisa and Allserum cross-reacted with the same sample (1 healthy group sample) resulting in analytical specificity equal to 97.44% for both. For IgG, Allserum did not cross-reacted (analytical specificity: 100%); ERBALisa cross-reacted with 2 samples (2 positives for Dengue virus) resulting in analytical specificity equal to 94.87%; and Biolisa cross-reacted with 2 samples (1 Rhinovirus, and 1 healthy group sample) resulting in analytical specificity equal to 94.87%.

Analytical interference

A total of 10 (9.53%) samples were hemolyzed, but there was no interference in the results obtained.

Table 1

Diagnostic characteristics of the ELISA tests evaluated considering separate IgM and IgG diagnosis and the combined diagnosis. Values are presented for patients with definite disease and patients with definite and probable disease.

Pos: G1; Neg: G3, G4, G5	**ERBALisa®**			**BIOLISA**			**ALLSERUM**		
Statistic value (CI 95%)	**IgM**	**IgG**	**IgM/IgG**	**IgM**	**IgG**	**IgM/IgG**	**IgM**	**IgG**	**IgM/IgG**
Sensitivity (%)	51.85 (37.84-65.66)	50.00 (36.08-63.92)	74.07 (60.35-85.04)	48.15 (34.34-62.16)	68.52 (54.45-80.48)	72.22 (58.36-83.54)	40.74 (27.57-54.97)	68.52 (54.45-80.48)	70.37 (56.39-82.02)
Specificity (%)	76.92 (60.67-88.87)	94.87 (82.68-99.37)	82.05 (66.47-92.46)	97.44 (86.52-99.94)	94.87 (82.68-99.37)	92.31 (79.13-98.38)	97.44 (86.52-99.94)	100.00 (90.97-100.00)	97.44 (86.52-99.94)
Positive Likelihood Ratio	2.25 (1.20-4.21)	9.75 (2.46-38.60)	4.13 (2.07-8.22)	18.78 (2.66-132.57)	13.36 (3.42-52.16)	9.39 (3.13-28.20)	15.89 (2.24-112.94)		27.44 (3.93-191.44)
Negative Likelihood Ratio	0.63 (0.45-0.87)	0.53 (0.40-0.69)	0.32 (0.20-0.51)	0.53 (0.41-0.69)	0.33 (0.22-0.50)	0.30 (0.19-0.47)	0.61 (0.48-0.76)	0.31 (0.21-0.47)	0.30 (0.20-0.46)
Positive Predictive Value (%)	75.68 (62.41-85.36)	93.10 (77.32-98.16)	85.11 (74.15-91.93)	96.30 (78.65-99.46)	94.87 (82.57-98.63)	92.86 (81.23-97.50)	95.65 (75.58-99.36)	100.00	97.44 (84.49-99.62)

Table 1 (continuation)

Negative Predictive Value (%)	53.57 (45.44-61.51)	57.81 (50.96-64.37)	69.57 (58.72-78.60)	57.58 (51.08-63.82)	68.52 (59.33-76.46)	70.59 (60.73-78.83)	54.29 (48.62-59.84)	69.64 (60.75-77.27)	70.37 (61.08-78.23)
Positive Clinical Utility Index	0.39 (0.22-0.56)	0.47 (0.30-0.63)	0.63 (0.49-0.77)	0.46 (0.29-0.63)	0.65 (0.51-0.79)	0.67 (0.54-0.80)	0.39 (0.21-0.57)	0.68 (0.56-0.81)	0.69 (0.56-0.81)
Negative Clinical Utility Index	0.41 (0.30-0.52)	0.55 (0.45-0.64)	0.57 (0.46-0.68)	0.56 (0.47-0.65)	0.65 (0.56-0.74)	0.65 (0.56-0.75)	0.53 (0.44-0.62)	0.70 (0.61-0.78)	0.69 (0.6-0.77)
Accuracy (%)	62.37 (51.72-72.21)	68.82 (58.37-78.02)	77.42 (67.58-85.45)	68.82 (58.37-78.02)	79.57 (69.95-87.23)	80.65 (71.15-88.11)	64.52 (53.91-74.17)	81.72 (72.35-88.98)	81.72 (72.35-88.98)
Youden index	0.29 (0.00-0.54)	0.45 (0.19-0.63)	0.56 (0.27-0.77)	0.46 (0.21-0.62)	0.63 (0.37-0.80)	0.64 (0.37-0.82)	0.38 (0.14-0.55)	0.68 (0.45-0.80)	0.68 (0.43-0.82)
Diagnostic Odds Ratio	3.59 (1.44-8.98)	18.50 (4.05-84.55)	13.06 (4.71-36.20)	35.29 (4.51-275.78)	40.27 (8.68-186.77)	31.20 (8.34-116.77)	26.12 (3.33-204.67)	169.29 (9.83-2916.28)	90.25 (11.39-715.04)
Matthews correlation coefficient	0.27	0.47	0.44	0.48	0.54	0.52	0.46	0.58	0.57
Pos: G1,G2; Neg: G3, G4, G5									
Sensitivity (%)	42.42 (30.34-55.21)	45.45 (33.14-58.19)	65.15 (52.42-76.47)	39.39 (27.58-52.19)	57.58 (44.79-69.66)	60.61 (47.81-72.42)	33.33 (22.20-46.01)	57.58 (44.79-69.66)	59.09 (46.29-71.05)
Specificity (%)	76.92 (60.67-88.87)	94.87 (82.68-99.37)	82.05 (66.47-92.46)	97.44 (86.52-99.94)	94.87 (82.68-99.37)	92.31 (79.13-98.38)	97.44 (86.52-99.94)	100.00 (90.97-100.00)	97.44 (86.52-99.94)
Positive Likelihood Ratio	1.84 (0.97-3.48)	8.86 (2.24-35.08)	3.63 (1.81-7.26)	15.36 (2.17-108.82)	11.23 (2.87-43.99)	7.88 (2.61-23.78)	13.00 (1.82-92.71)		23.05 (3.29-161.19)
Negative Likelihood Ratio	0.75 (0.57-0.98)	0.57 (0.46-0.73)	0.42 (0.30-0.61)	0.62 (0.51-0.76)	0.45 (0.33-0.60)	0.43 (0.31-0.58)	0.68 (0.57-0.82)	0.42 (0.32-0.56)	0.42 (0.31-0.56)
Positive Predictive Value (%)	75.68 (62.17-85.49)	93.75 (79.13-98.34)	86.00 (75.43-92.48)	96.30 (78.59-99.46)	95.00 (82.90-98.67)	93.02 (81.54-97.57)	95.65 (75.52-99.37)	100.00	97.50 (84.79-99.63)
Negative Predictive Value (%)	44.12 (37.62-50.82)	50.68 (44.90-56.45)	58.18 (49.23-66.63)	48.72 (43.72-53.74)	56.92 (49.71-63.86)	58.06 (50.32-65.43)	46.34 (41.95-50.79)	58.21 (51.26-64.85)	58.46 (51.18-65.39)
Positive Clinical Utility Index	0.32 (0.16-0.49)	0.43 (0.27-0.58)	0.56 (0.42-0.70)	0.38 (0.21-0.54)	0.55 (0.41-0.69)	0.56 (0.43-0.70)	0.32 (0.15-0.49)	0.58 (0.44-0.71)	0.58 (0.44-0.71)
Negative Clinical Utility Index	0.34 (0.23-0.45)	0.481 (0.39-0.57)	0.48 (0.37-0.59)	0.47 (0.38-0.57)	0.54 (0.44-0.63)	0.54 (0.44-0.63)	0.45 (0.36-0.54)	0.58 (0.49-0.67)	0.57 (0.48-0.66)
Accuracy (%)	55.24 (45.22-64.95)	63.81 (53.85-72.96)	71.43 (61.79-79.82)	60.95 (50.95-70.33)	71.43 (61.79-79.82)	72.38 (62.80-80.66)	57.14 (47.11-66.76)	77.00 (67.51-84.83)	73.33 (63.81-81.49)
Youden index	0.19 (0.00-0.44)	0.40 (0.16-0.58)	0.47 (0.19-0.69)	0.37 (0.14-0.52)	0.52 (0.27-0.69)	0.53 (0.27-0.71)	0.30 (0.09-0.46)	0.58 (0.36-0.70)	0.56 (0.33-0.71)
Diagnostic Odds Ratio	2.46 (1.01-5.98)	15.42 (3.43-69.31)	8.55 (3.27-22.36)	24.70 (3.19-191.12)	25.11 (5.58-113.01)	18.46 (5.15-66.21)	19.00 (2.44-147.67)	106.72 (6.30-1810.37)	54.89 (7.10-424.40)
Matthews correlation coefficient	0.20	0.42	0.47	0.41	0.52	0.52	0.36	0.58	0.56

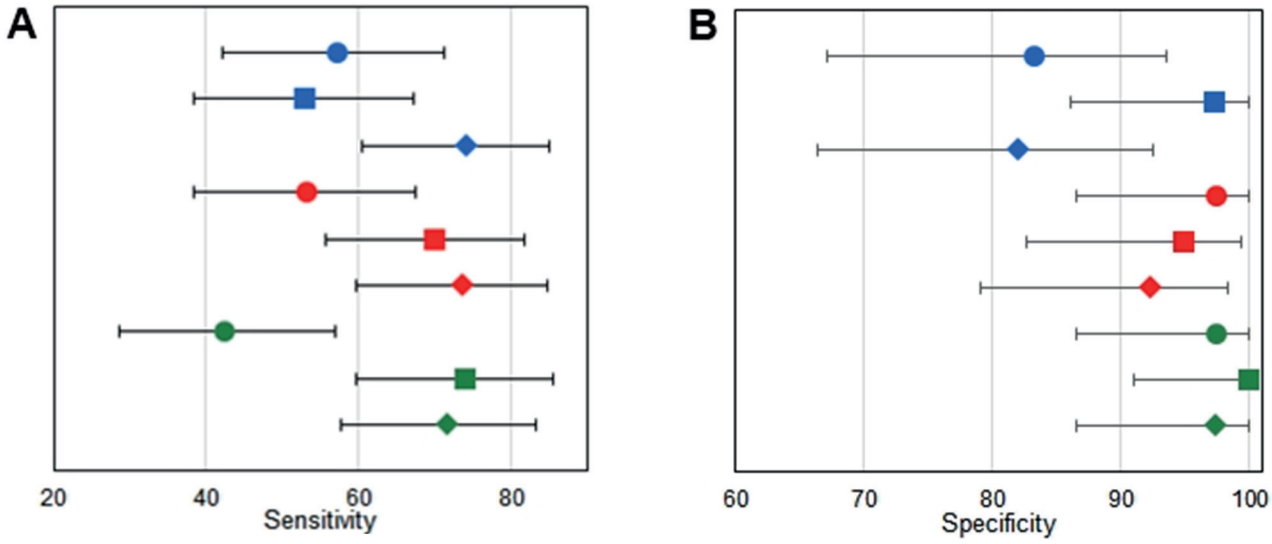


Figure 1

Analytical results for each manufacturer. A. Sensitivity for each manufacturer for diagnosis of SARS-CoV-2 in the groups with definite disease. B. Specificity of each manufacturer for diagnosis of SARS-CoV-2 in the groups with definite disease. Circles represent IgM results; blocks represent IgG results, and diamonds represent IgM+IgG results. Symbols, lines, or circles: blue, ERBALisa® COVID-19; green, Allserum EIA COVID-19; red, Biolisa COVID-19.

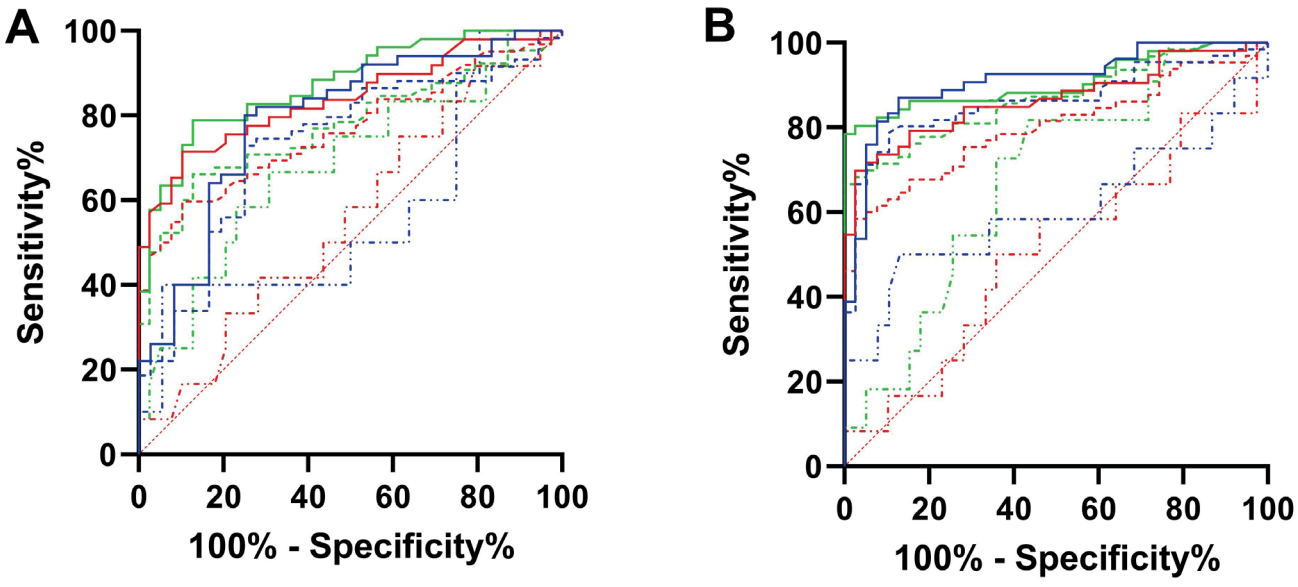


Figure 2

ROC Curve for IgM/IgG. A. ROC curve for IgM results for each manufacturer. B. ROC curve for IgG results for each manufacturer. Continuous line, group 1; thick dotted, groups 1 and 2; and thin dotted line, group 2. Lines: blue, ERBALisa® COVID-19; green, Allserum EIA COVID-19; red, Biolisa COVID-19.

Table 2

Comparison between the area under the curve (AUC) calculated in the ROC curve for IgM and IgG tests for the different tests evaluated obtained for each group of patients.

	IgM			IgG		
	ERBALisa® COVID-19	Biolisa COVID-19	Allserum EIA COVID-19	ERBALisa® COVID-19	Biolisa COVID-19	Allserum EIA COVID-19
Group 1	0.79 (0.69 to 0.89) $p<0.0001$	0.84 (0.76 to 0.92) $p<0.0001$	0.88 (0.81 to 0.94) $p<0.0001$	0.91 (0.85 to 0.97) $p<0.0001$	0.88 (0.79 to 0.94) $p<0.0001$	0.91 (0.84 to 0.97) p<0.0001
Group 1+2	0.73 (0.63 to 0.84) $p=0.0002$	0.76 (0.67 to 0.85) $p<0.0001$	0.77 (0.69 to 0.86) $p<0.0001$	0.86 (0.79 to 0.93) $p<0.0001$	0.80 (0.72 to 0.88) $p<0.0001$	0.87 (0.80 to 0.97) p<0.0001
Group 2	0.56 (0.34 to 0.79) $p=0.540$	0.56 (0.37 to 0.74) $p=0.556$	0.68 (0.50 to 0.87) $p=0.058$	0.61 (0.38 to 0.83) $p=0.271$	0.51 (0.31 to 0.71) $p=0.947$	0.68 (0.51 to 0.85) p=0.068

Note: *p* value less than 0.05 represents statistical difference between the AUC and the baseline (random classifier).

Table 3

Kappa index for the ELISA kits tested

Reactives	IgM	IgG	IgM/IgG
ErbaLisa® x Biolisa	0.649**	0.538*	0.612**
ErbaLisa® x Allserum	0.627**	0.695**	0.708**
Biolisa x Allserum	0.919***	0.871***	0.858***

Note: *- Moderate agreement. **- Substantial agreement. ***- Almost perfect agreement

DISCUSSION

We report the operational characteristics of the ELISA for IgM, IgG, and IgM or IgG anti-SARS-CoV-2 from three different manufacturers for IgG and IgM anti-SARS-CoV-2, which showed variability in the performance of these tests, mainly comparing sensitivity and specificity values that ranged from 33.33% to 74.07% for sensibility, and 76.92% to 100.00 for specificity. The best results were observed when IgM and IgG were analyzed together, suggesting that the separate detection of these antibodies may have a poor correlation with the presence of disease.

The diagnosis of SARS-CoV-2 infection involves collecting the correct specimen at the right time. IgM antibodies usually appear after the seventh day of the infection, indicating acute infection. Whereas IgG antibodies appear from the fourteenth day on. However, the usefulness of monitoring IgM and discriminating them from IgG is largely debated.[1,10]

Overall, the ELISA to identify SARS-CoV-2 antibodies (IgM, IgG) in the definite and probable cases showed fair sensitivity, and high specificity, and PPV. This indicates that a positive result is often seen in those with SARS-CoV-2 infection, and a negative result needs confirmation by clinical or other diagnostic methods to exclude the infection. The high PPV indicates that a false positive is rare, and suggests it can be a potential confirmatory test. The CUI+ values suggested ELISA are great for case finding, and a CUI- is good for screening. The overall value of this single test for combined screening and case finding is good. The clinical performance characteristics presented higher values considering only the definite SARS-CoV-2 cases determined by positive RT-qPCR. However, for probable cases, the clinical performance characteristics showed limited values. Overall, the manufacturers, diagnostic sensitivity, DOR and MCC of IgG were higher than IgM, and the diagnostic specificity was similar for IgM and IgG.

All serum test presented the best clinical performance characteristic, followed by the Biolisa. Our findings are in accordance with previous studies, in which the Allserum test showed in this studies, estimates of sensitivity for IgG (66.9%; 95% CI 58.8-74.1%) and specificity (98.1%; 95% CI 93.4-99.5%), and sensitivity for IgM (50.7; 95% CI 42.6-58.8%).[11,12,13] Biolisa and ERBALisa® did not present previous reports. The Youden´s index, accuracy and MCC of IgG were similar for the Allserum and Biolisa manufacturers, ERBALisa® showed lower results.

Test performance characteristics as provided by manufacturers were similar to those observed in our study, except the sensibility for all manufacturers, has also presented by Zhang et al.[14] with many others ELISA tests. In the present study, the median time after the symptoms appeared was 11 and 17 days in the groups with definite and probable SARS-CoV-2, and the positivity of immunological tests for SARS-CoV-2 diagnosis is time-dependent. Patients

with at least 8 days of symptoms presented a higher sensitivity.[15,16] Antibody-mediated immunity in SARS-CoV-2 specific IgM and IgG are detectable in the serum between 7 and 14 days after the onset of the symptoms, respectively. The SARS-CoV-2 Virus RNA peak occurs at 3-5 days after exposure; virus RNA inversely correlated with neutralizing antibody titers. In the acute phase of the disease, nucleic acid detection of SARS-CoV-2 in respiratory samples was greater than antibody detection in the diagnosis of COVID-19.[15,17,18] After that period, tests that detect the presence of specific antibodies are recommended.[10,19] Antibody tests could play a useful role in the detection of previous SARS-CoV-2 infection if applied 15 or more days after the onset of symptoms. The persistence of antibody rises is currently unknown, as there is very little data beyond 35 days post-symptoms onset[1] as well as about the extension of protection of neutralizing antibodies against subsequent infection with the virus.[20] The sensitivity of ELISA to SARS-CoV-2, in general it is 20.8% (95% CI = 9.2-40.4%) from the 1st to the 7th day after the onset of the symptoms; 54.9% (95% CI = 43.4-65.9%) from the 8th to the 14th days and 78.9% (95% CI = 68.1-86.8%) from day 15 after the onset of the symptoms.[21]

Our study will add to the previous ones[1,14,21] as SARS-CoV-2 infection cases were based on RT-qPCR and clinical radiologic criteria, i.e., definite and probable SARS-CoV-2 cases, respectively;[2] a total of 18% of the samples included in the SARS-CoV-2 group were probable infection. Although these cases fulfill the clinical and radiological criteria for SARS-CoV-2 infection, some cases could be miss enrolled.

Serological cross-reactivity of SARS-CoV-2 immunoassays with DENV has been previously reported.[22,23] There is a high similarity between the SARS-CoV-2 - HR2 domain of the spike protein with envelope proteins from several flaviviruses, particularly DENV.[23] Flaviviruses are distributed around the world and include DENV, Zika virus, and West Nile virus, among others. Further factors such as polyclonal activation, which occurs in other diseases described here, may be associated with cross-reactivity in the immunological tests of COVID-19. The cross-reactivity of COVID-19 serological tests with a wide range of acute diseases can restrict the applicability of point-of-care tests in the screening of this infection in the population, including for its diagnosis or seroprevalence studies. Although, these findings need to be validated with a large number of samples and other viral infections, including the other cross-reactions reported in this study.

The authors call attention to the importance of these results for SARS-CoV-2 diagnosis in the endemic regions for DENV, such as Latin America, Asia, Australia, and Africa, in addition to endemic countries for other flavivirus diseases (North America and Europe).[24] This is mainly due to the overlap of some clinical signs and symptoms that may mask the accurate diagnosis of these diseases.

ROC curve is a valuable tool in assessing the performance of a diagnostic test over the range of possible values of a predictor variable. The area under a ROC curve provides a measure of discrimination and allows investigators to compare the performance of two or more diagnostic tests. In general, an AUC of 0.5 suggests no discrimination (i.e., ability to diagnose patients with and without the disease or condition based on the test), 0.7 to 0.8 is considered acceptable, 0.8 to 0.9 is deemed excellent, and more than that 0.9 is considered outstanding.[25] Comparing the results obtained with the three kits, none of them were adequate to discriminate the presence of infection in group 2, which corresponds to those classified as probable SARS-CoV-2 infection, with negative RT-PCR, but with clinical manifestation suggestive of COVID-19.

Cohen's Kappa only assesses the correlation between the tests, without showing whether this correlation represents that both are diagnostically good or not.[9] Therefore, evaluating the other analyzed parameters (sensitivity, specificity, PPV and accuracy) it is possible to affirm that the Biolisa and Allserum kits presented a positive correlation in their results, with almost perfect Cohen's Kappa values.

The limitation of this study is the small number of samples and the lack of blinding of the index test and reference standard. Among definite or probable SARS-CoV-2 samples, 46.97% were outpatients, of these, only two were asymptomatic. Therefore, it is unclear if the results could be expanded to asymptomatic or oligosymptomatic persons or even used on serological community surveys.

CONCLUSION

Our data demonstrate the good performance of the antibodies assays studied. We observed substantial heterogeneity in sensitivities of IgM and IgG antibodies between manufacturers. The high specificity of ELISAs may contribute to rapidly confirming the presence of SARS-CoV-2 infection and accelerate decision-making in emergency rooms and routing to appropriate hospital wards. Nonetheless, these ELISA tests cannot replace molecular diagnostics in

acute-care settings, but should only be used as an additional screening tool when the improvement of hospital logistics is expected and their limitations are carefully considered. Furthermore, it is noteworthy that the kits available may have variable operational characteristics that can impact the results.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank all those involved in obtaining and preparing samples from the virology sector of Complexo Hospital de Clínicas. The authors also thank CAPES and CNPq.

REFERENCES

1. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Phillips S, et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS- CoV-2. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2020; 6: Art. No.: CD013652. DOI: 10.1002/14651858.CD013652.
2. World Health Organization. Public health surveillance for COVID-19. WHO/2019-nCoV/SurveillanceGuidance/2020.7. 2020; Last accessed, June 9, 2020.
3. Food and Drug Administration. New York SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Diagnostic Panel. 2020; February 29. https://www.fda.gov/media/135662/download. Last accessed, March 9, 2020.
4. Galen RS, Gambino SR. Beyond normality, the predictive value and efficiency of medical diagnoses. 1975; New York: Wiley & Sons; 237 p.
5. Mitchell AJ. The clinical significance of subjective memory complaints in the diagnosis of mild cognitive impairment and dementia: a meta-analysis. Int J Geriatr Psych. 2008 Nov; 23(11):1191-202.
6. Mitchell AJ. Sensitivity x PPV is a recognized test called the clinical utility index (CUI+). Eur J Epidemiol. 2011 Mar; 26 (3):251-2.
7. McGee S. Simplifying likelihood ratios. J Gen Intern Med. 2002 Aug; 17(8):647-50.
8. Akobeng AK. Understanding diagnostic tests 2: likelihood ratios, pre- and post-test probabilities and their use in clinical practice. Acta Pædiatr. 2007 Apr; 96(4):487-91.
9. McHugh M L. Interrater reliability: the kappa statistic. Biochem Med (Zagreb). 2012; 22(3): 276–82.
10. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, et al. Immunology of COVID-19. Current State of the Sci. Immunity. 2020 Jun; 52(6): 910–41.
11. Santos LAO, Campelo YDM, Beltrão RPL, Mendonça GS, Silva VA, Campelo VMB. Analysis of the effectiveness rate of rapid serological tests for COVID-19 registered in ANVISA, a systematic review in the literature. Res, Soc & Devel. 2021 Aug; 10(11)
12. Whitman JD, Hiatt J, Mowery CT, Shy BR, Yu R, Yamamoto TN, et al. Test performance evaluation of SARS-CoV-2 serological assays. Preprint at medRxiv 2020; https://doi.org/10.1101/2020.04.25.20074856.
13. Pellanda LC, Wendland EM, McBride AJA, Tovo-Rodrigues L, Ferreira MRA, Dellagostin OA, et al. Sensitivity and specificity of a rapid test for assessment of exposure to SARS-CoV-2 in a community-based setting in Brazil. Preprint at medRxiv. 2020; https://doi.org/10.1101/2020.05.06.20093476.
14. Zhang ZL, Hou YL, Li DT, Li FZ. Diagnostic efficacy of anti-SARS-CoV-2 IgG/IgM test for COVID-19: A meta-analysis. J Med Vir. 2021; 93:366-374; https://doi.org/10.1002/jmv.26211.
15. Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody responses to SARSCoV- 2 in patients of novel coronavirus disease 2019. Clin Infect Dis. 2020; https://doi.org/10.1093/cid/ciaa344. pii: ciaa344.
16. Xiang F, Wang X, He X, Peng Z, Yang B, Zhang J, et al. Antibody detection and dynamic characteristics in patients with COVID-19. Clin Infect Dis. 2020 Nov; 71(8):1930-1934. https://doi.org/10.1093/cid/ciaa461. pii: ciaa461.
17. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D, Yang F, et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). Clin Infect Dis. 2020 Jul 28;71(15):778-785.doi:10.1093/cid/ciaa310. [Epub ahead of print].
18. Cassaniti I, Novazzi F, Giardina F, Salivaro F, Sachs M, Perlini S, et al. Performance of VivaDiagTM COVID-19 IgM/IgG Rapid Test is inadequate for diagnosis of COVID-19 in acute patients referring to emergency room department. J Med Virol. 2020 March: 1-4. doi:10.1002/jmv.25800.
19. Peeling RW, Wedderburn CJ, Garcia PJ, Boeras D, Fongwen N, Nkengasong J, et al. Serology testing in the COVID-19 pandemic response. Lancet Infect dis. 2020 Sept; 20: 245-9.
20. D'Cruz RJ, Currier AW, Sampson VB. Laboratory Testing Methods for Novel Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 (SARS-CoV-2). Front Cell Dev Biol. 2020 Jun; 8:468.
21. Cota G, Freire ML, Souza CS, Pedras MJ, Saliba JW, Faria V, Alves LL, Rabello A, Avelar DM. Diagnostic performance of commercially available COVID-19 serology tests in Brazil. Int J Inf Diseases. 2020 Dec; 101: 382-390 https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.10.008.
22. Faccini-Martínez ÁA, Rivero R, Garay E, García A, Mattar S, Botero Y, Galeano K, Miranda J, Martínez C, Guzmán C, Arrieta G, Contreras H, Kerguelen H, Moscote M, Brango E & Contreras V. Serological cross-reactivity using a SARS-CoV-2 ELISA test in acute Zika virus infection, Colombia. International Journal of Infectious Diseases. 2020 Jan; 101: 191-193. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.09.1451.
23. Lustig Y, Keler S, Kolodny R, Ben-Tal N, Atias-Varon D, Shlush E, Gerlic M, Munitz A, Doolman R, Asraf K, Shlush LI, & Vivante A. Potential antigenic cross-reactivity between severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and dengue viruses. Clinical Infectious Diseases. 2020; 6: 1-11. https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1207.
24. Daep CA, Muñoz-Jordán JL, & Eugenin EA. Flaviviruses, an expanding threat in public health: focus on dengue, West Nile, and Japanese encephalitis virus. Journal of NeuroVirology. 2014; 20(6): 539-560. https://doi.org/10.1007/s13365-014-0285-z.
25. Mandrekar JN. Receiver Operating Characteristic Curve in Diagnostic Test Assessment. J Thor Onc. 2010 Sep; 5(9): 1315-1316. https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e3181ec173d.

Avaliação da relação entre cortisol e perfil lipídico através da Análise de prontuários laboratoriais

Evaluation of the relationship between cortisol and lipid profile through the analysis of laboratory records

Andressa Leite Moraes[1], *Karina Schreiner Kirsten*[1]

[1] Faculdade Especializada na Área da Saúde do Rio Grande do Sul, Curso de Biomedicina – Passo Fundo, RS, Brasil.

Resumo

Introdução: O estresse é uma resposta fisiológica e comportamental do organismo. Episódios de estresse ativam o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e culminam na produção de cortisol. Alterações no cortisol e no perfil lipídico podem estar relacionadas, uma vez que o estresse induz a ingestão de alimentos gordurosos, e o colesterol é precursor indispensável para síntese de cortisol. *Objetivo:* Avaliar a relação entre cortisol e perfil lipídico. *Materiais e métodos:* Foram coletadas as seguintes informações de prontuários laboratoriais de 32 indivíduos: sexo, idade e resultados dos exames de cortisol, colesterol total e frações de lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e triglicerídeos. Os dados foram analisados pelo teste t de Student, sendo considerados significativos valores de $p<0,05$. Para análise dos resultados, os níveis de cortisol foram divididos em normais (<20µg/dl) ou alterados (>20µg/dl) e comparados com os demais parâmetros analisados. *Resultados:* Foi encontrado aumento significativo dos níveis de colesterol total e HDL em indivíduos com o cortisol aumentado, não havendo alteração significativa dos demais parâmetros avaliados. Estes resultados demonstram que os níveis de cortisol e de colesterol estão intimamente relacionados. *Conclusão:* Evidencia-se a importância de mensurar estes parâmetros rotineiramente, visto que, o excesso de cortisol contribui para a ocorrência de dislipidemias, principalmente aumento do colesterol total.

Palavras-chave: Estresse Fisiológico; Hidrocortisona; Colesterol

Abstract

Introduction: Stress is a physiological and behavioral response of the body in response to a stressor. Stress episodes activate the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and culminate in the production of cortisol. Changes in cortisol and lipid profile may be related, as stress induces the intake of foods with high fat content, and cholesterol is an indispensable precursor for cortisol synthesis. *Objective:* Evaluate the relationship between serum cortisol levels and lipid profile. *Materials and methods:* The following information was collected from laboratory records of 32 individuals: gender, age and results of cortisol, total cholesterol and its HDL, LDL and triglycerides. Data were analysed using the Student t test, with p-values<0.05 being considered significant. To analyse the results, cortisol levels were divided into normal (<20µg/dl) or altered (>20µg/dl) and compared with the other parameters. *Results:* A significant increase in total cholesterol levels and its HDL fraction was found in individuals with increased cortisol, with no significant change in the other parameters evaluated. These results demonstrate that cortisol and cholesterol levels are closely related. *Conclusion:* The importance of measuring these parameters routinely is evident, since the excess of cortisol contributes to the occurrence of dyslipidemia, especially an increase in total cholesterol.

Keywords: Physiological Stress; Hydrocortisone; Cholesterol

Correspondência
Karina Schreiner Kirsten
E-mail: karina.kirsten2@gmail.com

Recebido em 11/01/2022 | Aprovado em 13/04/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200010

INTRODUÇÃO

O corpo humano apresenta relações sistêmicas e trabalha de maneira homeostática a fim de manter as funções do organismo estáveis.[1] No entanto, fatores do cotidiano, denominados estressores, provocam a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), alterando o equilíbrio do corpo. A resposta do eixo HPA é iniciada nos neurônios do núcleo paraventricular (PVN) do hipotálamo mediante a liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH).[2] Em sequência, o CRH age na hipófise anterior, promovendo a liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na circulação sanguínea, que estimula a síntese de cortisol pelo córtex da glândula adrenal.[3]

O cortisol, o hormônio do estresse, é um corticosteroide que possui diversos efeitos sobre o organismo, como alterações no metabolismo de colesterol e glicose, balanço de fluidos, além de atuar na resposta imune, com seus efeitos preponderantemente anti-inflamatórios.[1] Em longo prazo, níveis elevados de cortisol estão associados a distúrbios metabólicos agrupados à síndrome metabólica, como resistência à insulina, dislipidemia, hipertensão e ganho de peso.[4]

A dislipidemia consta da alteração nos níveis séricos dos lipídios e é um distúrbio comum na população. Estudos observacionais de base populacional conduzidos no Brasil revelam prevalências de dislipidemia de 43% a 60%.[5] Sabe-se que as dislipidemias favorecem o desenvolvimento de aterosclerose, marcada pela obstrução das artérias e está associada a diversas doenças cardiovasculares, dentre elas a doença arterial coronariana (DAC) e o infarto agudo do miocárdio (IAM).[6]

Segundo a última atualização das Diretrizes Brasileiras de Dislipidemias, considera-se desejável o valor de colesterol total inferior a 190mg/dL e o HDL superior a 40mg/dL com ou sem jejum e, para triglicerídeos, recomenda-se valor inferior a 150mg/dL com jejum ou inferior a 175mg/dL sem jejum. Já para o colesterol LDL e colesterol não-HDL, os valores são divididos por categoria de risco.[7]

O estresse e as alterações no perfil lipídico estão profundamente correlacionados. Em decorrência do aumento dos níveis de cortisol, a grande maioria das pessoas tende a ingerir mais alimentos. Além de aumentar o apetite, a preferência é por "alimentos de conforto", que são densos em energia, por serem ricos em gordura e açúcar.[4] Sugere-se que perante altos níveis de estresse crônico, a ingestão de comida de conforto provoca o acúmulo de gordura abdominal.[8]

Além disso, a ingestão de "alimentos de conforto" implica reações fisiológicas importantes para o controle da função e atividade do eixo HPA durante o estresse. Os glicocorticoides provocam a reação de feedback negativo no hipotálamo e na hipófise anterior durante uma resposta aguda ao estresse, reduzindo os níveis de CRH e ACTH e, consequentemente, bloqueando a síntese de cortisol. Todavia, se o estressor é de alta intensidade e prevalece por longo período de tempo, caracterizando um estresse crônico, a eficácia do glicocorticoide no feedback negativo é menor, causando um aumento crônico dos níveis séricos de cortisol.[2]

A avaliação dos níveis de cortisol pode ser feita através de uma amostra de sangue, urina ou saliva, além do cabelo, que tem sido uma técnica adequada para avaliar concentrações de cortisol em longo prazo.[9] A análise do cortisol capilar supera os limites da variação do cortisol no decorrer do dia e do estresse agudo e favorece estudos sobre o estresse e a obesidade.[10] Porém, o cortisol sanguíneo ainda é o mais utilizado em razão do custo-benefício e facilidade de técnicas de análise. Devido ao ciclo circadiano a dosagem do cortisol basal sanguíneo é realizada pela manhã, com maiores concentrações das 7 às 9 horas, e apresenta concentrações variáveis, sendo considerados os valores basais de cortisol normal valores inferiores a 20µg/dL.[11]

Conforme o apresentado até aqui, fica clara a correlação fisiológica existente entre os níveis séricos de cortisol e o perfil lipídico, especialmente o colesterol. Então, com este estudo buscamos avaliar, a partir de resultados de exames laboratoriais, a relação entre estes parâmetros em uma população.

MATERIAIS E MÉTODOS

População de estudo

Foram selecionados prontuários de 32 indivíduos, com idade média de 35,9 ±13,6 anos, sendo 23 do sexo feminino e 9 do sexo masculino, que realizaram exames de cortisol e perfil lipídico entre 2018 e 2020. Foram incluídos pacientes que realizaram a punção venosa entre as 7 e 9 horas da manhã, e excluídos pacientes com prontuários incompletos e que não realizaram todos os exames ou que realizaram a punção venosa após as 9 horas da manhã.

Delineamento de estudo

O estudo foi realizado a partir da análise de prontuários de um laboratório de análises clínicas do município de Passo Fundo, RS. Foram coletadas as seguintes informações: sexo, idade e resultados dos exames de cortisol, colesterol total e suas frações HDL, LDL e triglicerídeos. Os dados foram tabelados para posterior análise estatística.

Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o software estatístico GraphPadPrism 7, através do teste t de Student para dados paramétricos e teste de Mann-Whitney para dados não paramétricos.

Primeiramente compararam-se os níveis séricos de cortisol entre homens e mulheres. Em seguida, a população foi dividida em dois grupos: indivíduos com cortisol normal (<20µg/dL) e indivíduos com cortisol aumentado (>20µg/dL), e foi feita então a comparação da idade dos participantes, bem como dos níveis de colesterol total, HDL, LDL e triglicerídeos entre os dois grupos.

Em todas as análises, p<0,05 foi considerado significativo.

ÉTICA

O estudo foi conduzido de acordo com as diretrizes normativas do Conselho Nacional de Saúde [CNS] e da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa [CONEP]. Além disso, os procedimentos seguidos estão de acordo com os princípios éticos aceitos pela normativa nacional (Resolução CNS 466/2012) e normativa internacional (Declaração de Helsinque / Associação Médica Mundial).

A coleta de dados de prontuários foi feita após a aprovação do local de estudo e da aprovação da pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Especializada na Área da Saúde do Rio Grande do Sul – FASURGS, sob o número 4.409.933.

RESULTADOS

Primeiramente foram comparados os níveis de cortisol entre homens e mulheres, sem diferença estatística (Homens: 15,1µg/dL ± 2,4µg/dL; Mulheres: 19,5µg/dL ± 2,4µg/dL, p=0,3).

Para a análise dos demais resultados, a população do estudo foi dividida, quanto aos níveis de cortisol, em cortisol normal, que constou de 16 indivíduos com níveis de cortisol inferiores a 20µg/dl, e em cortisol alterado, com 16 indivíduos com níveis de cortisol superiores a 20µg/dl.

A idade dos pacientes não variou conforme os níveis de cortisol (cortisol normal: 37,3 ± 2,5 anos, cortisol alterado: 34,4 ± 4,1 anos, p=0,55).

Os valores médios dos parâmetros analisados estavam dentro dos valores de referência nos dois grupos avaliados, exceto para o colesterol total, que no grupo de indivíduos com cortisol aumentado apresentou-se levemente aumentado (192 ± 7,5mg/dL), enquanto nos indivíduos com cortisol normal este valor estava dentro dos limites de referência. Os resultados da análise dos níveis de colesterol total, LDL, HDL e triglicerídeos encontram-se na Figura 1.

Ressalta-se que, de modo geral, a média dos níveis séricos de todos os parâmetros analisados foi maior em indivíduos com cortisol elevado (triglicerídeos p=0,1; LDL p=0,25), porém foi encontrada diferença estatística apenas nos parâmetros colesterol total (p=0,03) e HDL (p=0,03).

DISCUSSÃO

Observa-se nesta pesquisa que os níveis de colesterol total e HDL são significativamente maiores em indivíduos com cortisol aumentado, enquanto os níveis de colesterol LDL e triglicerídeos não apresentaram diferenças significativas conforme o nível de cortisol dos indivíduos.

O cortisol é um hormônio esteroide produzido pelo córtex adrenal e sua síntese é controlada pelo eixo hipotálamo-pituitária-adrenal. O estímulo inicial ocorre no hipotálamo e consta do impulso fisiológico do ciclo circadiano ou de agentes estressores, trauma ou hipoglicemia.[12]

As relações entre o precursor, colesterol, e o seu produto cortisol são entendidas através das vias da esteroidogênese. Esse processo envolve a bioquímica de enzimas, cofatores

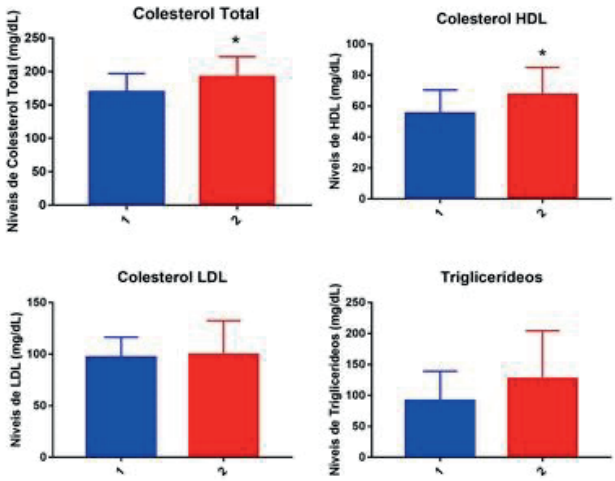


Figura 1

Análise dos parâmetros laboratoriais: Comparação dos níveis séricos de colesterol total, HDL, LDL e triglicerídeos em indivíduos com cortisol normal (azul) versus cortisol aumentado (vermelho). Os dados estão representados por média ± desvio padrão e foram analisados por teste t de Student. Diferenças significativas estão indicadas por um asterisco (p* <0,05).

e genes que os codificam. Primeiro ocorre a conversão do colesterol em pregnenolona pela enzima P450scc (CYP11A1), na mitocôndria, porém essa etapa envolve mecanismos regulatórios, e após acontecerem hidroxilações, a pregnenolona é convertida no glicocorticoide cortisol.[13]

Desta maneira, uma vez que o colesterol é precursor fundamental para a síntese de cortisol, explica-se por que o aumento dos níveis séricos de cortisol pode se correlacionar com o aumento do colesterol total. Estudos anteriores demonstram esta correlação, como o de Catalina-Romero e colaboradores,[14] em que o estresse foi positivamente correlacionado a distúrbios lipídicos, entre eles destaca-se o aumento do colesterol total, resultado muito semelhante ao encontrado neste estudo.

Em relação ao perfil lipídico da população estudada, os níveis de triglicerídeos, HDL e LDL estavam dentro dos valores considerados ideais para a população.[7] Já os níveis de colesterol total estavam dentro dos valores de referência em indivíduos com o cortisol normal e levemente aumentados em indivíduos com cortisol elevado.

Avaliando as frações do colesterol total, foi encontrado aumento dos níveis de HDL em indivíduos com cortisol aumentado. O HDL é popularmente conhecido como colesterol bom, pois realiza o transporte reverso de colesterol, evitando o acúmulo de colesterol na camada íntima das artérias. Por outro lado, os níveis de LDL não apresentaram aumento significativo. Esse achado confronta alguns estudos anteriores, os quais tiveram um aumento significativo de colesterol LDL e valores reduzidos de HDL.[15]

Tanto as lipoproteínas de baixa densidade quanto as de alta densidade estão envolvidas no processo de síntese de cortisol e, sendo assim, o colesterol HDL desempenha um papel importante no fornecimento de colesterol para a esteroidogênese,[16] fato que explicaria o aumento dos níveis de HDL evidenciados neste estudo.

Os triglicerídeos não participam diretamente da síntese de cortisol. Todavia, como durante o estresse, o organismo necessita de mais energia, ocorre o aumento da hidrólise dos triglicerídeos, mediante a ação da lipase, aumentando a produção de adenosina trifosfato (ATP).[17] Além disso, o estresse ocasiona o aumento da ingestão de "alimentos de conforto", que são ricos em lipídios e glicose.[4] Estudos anteriores identificaram o aumento dos níveis de triglicerídeos em indivíduos com o cortisol aumentado,[18] porém neste estudo, embora os níveis de triglicerídeos estivessem maiores em indivíduos com altos níveis de cortisol, este resultado não apresentou diferença estatística (p=0,1).

Em relação aos indivíduos participantes da pesquisa, foi notável que a grande maioria deles é do sexo feminino, não sendo possível avaliar a relação concreta entre os níveis lipídicos e de cortisol no quesito referente ao sexo. Observa-se que a procura por cuidados à saúde e a realização de exames é maior no público feminino.[19]

Uma limitação deste estudo é que foi avaliada a concentração sérica de cortisol, um marcador que reflete inadequadamente os níveis de cortisol em longo prazo e seus efeitos a nível celular, devido ao ritmo circadiano, secreção pulsátil e as mudanças de estresse diárias.[4] Uma alternativa de método plausível é a mensuração do cortisol capilar, em que é possível avaliar os níveis de cortisol a longo prazo em uma única dosagem.[20] Estudo anterior já demonstrou isso, encontrando significância positiva ao avaliar as concentrações de cortisol no cabelo relacionadas à elevação da adiposidade em indivíduos adultos expostos por um longo período a níveis elevados de cortisol.[9] Porém, como em nossa região o método de mensuração de cortisol capilar ainda não é amplamente utilizado, o que implicaria uma redução significativa da população do estudo, optamos pela avaliação do cortisol sérico neste estudo.

Outra limitação é que este estudo foi realizado a partir da análise de prontuários, e portanto não é possível saber a que tipo de estresse os indivíduos com cortisol aumentado estão expostos. O estresse pode ser agudo, de curto prazo ou de baixa intensidade, ou crônico, de longo prazo ou alta intensidade, e os efeitos metabólicos do estresse agudo e crônico diferem muito, sendo que o estresse crônico é o responsável por causar alterações metabólicas.[21]

A avaliação do cortisol juntamente com o perfil lipídico tem grande importância na prática clínica no diagnóstico e avaliação de risco de diversas patologias. Conforme o estudo demonstrou, ocorre o aumento dos níveis de colesterol total em indivíduos com o cortisol elevado. Todavia, o aumento significativo das frações de colesterol, nesse estudo, foi do HDL.

Faz-se necessário, assim, importantes novos estudos com maior número de indivíduos e que sejam relativamente proporcionais quanto ao sexo, já que nesse estudo houve predomínio de indivíduos do sexo feminino.

CONCLUSÕES

No presente estudo, evidenciou-se a relação entre os níveis aumentados de cortisol e de perfil lipídico, especialmente o colesterol. Assim, reforçamos a importância da mensuração rotineira destes parâmetros, visto que o excesso de cortisol contribui para a ocorrência de dislipidemias.

REFERÊNCIAS

1. Roberts C, McWade B. Messengers of stress: Towards a cortisol sociology. Sociol Health Illn. 2021 May;43(4):895-909.
2. Hewagalamulage SD, Lee TK, Clarke IJ, Henry BA. Stress, cortisol and obesity: a role for cortisol responsiveness in identifying individuals prone to obesity. Domest Anim Endocrinol. 2016; 56: S112-20.
3. Karaca Z, Grossman A, Kelestimur F. Investigation of the Hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis: a contemporary synthesis. Rev Endocr Metab Disord. 2021 Jun;22(2):179-204.
4. Van Rossum EFC. Obesity and cortisol: New perspectives on an old theme. Obesity (Silver Spring). 2017; 25(3):500-1.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias e Inovação em Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Dislipidemia: prevenção de eventos cardiovasculares e Pancreatite [recurso eletrônico]. Ministério da Saúde. 2020; 1ª Edição: 1-38. Disponível em: <http://conitec.gov.br/images/Protocolos/Publicacoes_MS/PCDT_Dislipidemia_PrevencaoEventosCardiovascularesePancreatite_ISBN_18-08-2020.pdf> [Acesso em: 27 Sept. 2021].
6. Pirillo A, Casula M, Olmastroni E, Norata GD, Catapano AL. Global epidemiology of dyslipidaemias. Nat Rev Cardiol. 2021 Oct;18(10):689-700.
7. Faludi AA, Izar MCO, Saraiva JFK, Chacra APM, Bianco HT, Afiune Neto A et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. Arq Bras Cardiol. 2017; 109(2 Supl 1):1-76.
8. Rodriguez ACI, Epel ES, White ML, Standen EC, Seckl JR, Tomiyama AJ. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation and cortisol activity in obesity: a systematic review. Psychoneuroendocrinology. 2015; 62:301-18.
9. Jackson SE, Kirschbaum C, Steptoe A. Hair cortisol and adiposity in a population-based sample of 2,527 men and women aged 54 to 87 years. Obesity (Silver Spring). 2017; 25(3):539-44.
10. Van Der Valk ES, Savas M, Van Rossum EFC. Stress and Obesity: Are There More Susceptible Individuals? Curr Obes Rep. 2018; 7(2):193-203.
11. Rivers EP, Gaspari M, Saad GA, Mlynarek M, Fath J, Horst HM, et al. Adrenal insufficiency in high-risk surgical ICU patients. Chest. 2001; 119(3):889-96.
12. El-Farhan N, Rees DA, Evans C. Measuring cortisol in serum, urine and saliva – are our assays good enough? Ann Clin Biochem. 2017; 54(3):308-22.
13. Miller WL, Auchus RJ. The Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology of Human Steroidogenesis and Its Disorders. Endocr Rev. 2011; 32(1):81-151.
14. Catalina-Romero C, Calvo E, Sánchez-Chaparro MA, Valdivielso P, Sainz JC, Cabrera M, et al. The relationship between job stress and dyslipidemia. Scand J Public Health. 2013; 2(41):142-9.
15. ASSADI SN. What are the effects of psychological stress and physical work on blood lipid profiles? Medicine (Baltimore). 2017; 96(18):e6816.
16. Bochem AE, Holleboom AG, Romijn JA, Hoekstra M, Dallinga-Thie GM, Motazacker MM, et al. High density lipoprotein as a source of cholesterol for adrenal steroidogenesis: a study in individuals with low plasma HDL-C. J Lipid Res. 2013; 54(6):1698-704.
17. Zhao Y, Liu L, Yang S, Liu G, Pan L, Gu C, Wang Y, Li D, Zhao R, Wu M. Mechanisms of Atherosclerosis Induced by Postprandial Lipemia. Front Cardiovasc Med. 2021 Apr 29;8:636947.
18. Gallegos-Gonzalez G, Pineda-García G, Serrano-Medina A, Martinez AL, Ochoa-Ruiz E. Association between Stress and Metabolic Syndrome and its Mediating Factors in University Students. Am J Health Behav. 2021 Nov 15;45(6):1091-1102.
19. Levorato CD, Mello LM de, Silva AS da, Nunes AA. Fatores associados à procura por serviços de saúde numa perspectiva relacional de gênero. Ciência Saúde Coletiva. 2014; 19(04):1263-1274.
20. Russell E, Kirschbaum C, Laudenslager ML, Stalder T, Rijke Yde, Van Rossum EF, et al. Toward standardization of hair cortisol measurement: results of the first international interlaboratory round robin. Ther Drug Monit. 2015; 37(1):71-5.
21. Dhabhar FS. Effects of stress on immune function: The good, the bad, and the beautiful. Immunol Res. 2014; 58(2-3):193-210.

Emergência de Enterobacterales produtoras de metalo-beta-lactamases em um Hospital de Referência para Covid-19

Emergency of Enterobacterales producing metallo-beta-lactamases in a referral hospital for Covid-19

Valéria Martins Soares[1], *Diana Manzi Viegas*[1]

[1] Hospital Júlia Kubitschek – Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG, Brasil.

Resumo

A resistência aos antimicrobianos é uma crescente ameaça à saúde pública mundial. O objetivo desse estudo foi reportar a emergência de Enterobacterales produtoras de metalo-beta-lactamases no Hospital Júlia Kubitschek (HJK), direcionado para o atendimento aos pacientes de Covid-19. Trata-se de um estudo descritivo de caráter retrospectivo. Foram incluídas 128 cepas de Enterobacterales produtoras de carbapenemases isoladas entre janeiro de 2021 a setembro de 2021. Entre as 128 bactérias com detecção de carbapenemases, 92/128 eram do tipo serino, 32/128 eram NDM e em 1/128 foram detectados os genes bla_{KPC} e bla_{NDM}. Além disso, o teste fenotípico mCIM eCIM mostrou-se uma boa ferramenta na triagem da produção e classificação das carbapenemases na instituição.

Palavras-chave: enterobacterales; metalo-beta-lactamases; Covid-19

Abstract

Antimicrobial resistance is a growing threat to global public health. The aim of this study was to report the emergence of metallo-beta-lactamases producing Enterobacterales at Hospital Júlia Kubitschek (HJK), aimed at the care of patients with Covid-19. This is a descriptive, retrospective study. A total of 128 carbapenemase-producing Enterobacterales strains isolated between January 2021 and September 2021 were included. Among the 128 bacteria with carbapenemase detection, 92/128 were serine-type, 32/128 were NDM and 1/128 were blaKPC plus blaNDM. In addition, the mCIM eCIM phenotypic test proved to be a good tool for screening the production and classifying carbapenemases in the institution.

Keywords: enterobacterales; metallo-beta-lactamases; Covid-19

Correspondência
Valéria Martins Soares
E-mail: valeria-msoares@hotmail.com

Recebido em 23/02/2022 | Aprovado em 19/05/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200025

INTRODUÇÃO

A resistência aos antimicrobianos é uma crescente ameaça à saúde pública mundial e gera muita preocupação e impactos negativos. A produção de enzimas que degradam os carbapenêmicos é o principal fator relacionado à resistência e diversas carbapenemases já foram descritas como a *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) e a New Delhi metalo-beta-lactamases, entre outras[1]. A resistência aos carbapenêmicos em Enterobacterales é, na maioria dos casos, mediada por plasmídios, que exercem um importante papel na disseminação do gene, necessitando de práticas de controle de infecção rigorosas.[2]

Os carbapenêmicos, um agente antimicrobiano efetivo, teve seu uso limitado devido a esse novo cenário de emergência das cepas produtoras de carbapenemases. Tanto a KPC quanto a NDM se disseminaram rapidamente a nível mundial e estão geralmente associadas a resistência a outros antimicrobianos.[3]

A primeira descrição da KPC ocorreu nos Estados Unidos, em 1996. Após o relato inicial no Brasil várias publicações tem demonstrado a disseminação em todo o país, inclusive em bacilos Gram negativos não fermentadores.[4,5] No Hospital Júlia Kubistchek da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG), o primeiro isolamento de Enterobacterales produtora de KPC ocorreu no ano de 2009, tornando-se endêmica na instituição.[6]

Com relação à NDM, foi reportada pela primeira vez no mundo em 2009, em uma *Klebsiella pneumoniae* originária da Ìndia e isolada em 2008. No Brasil o primeiro relato ocorreu no ano de 2013, em uma cepa de *Providencia rettgeri* e desde então o gene vem sendo detectado em várias espécies e locais.[7]

A partir de 2009, o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) passou a recomendar a pesquisa da enzima KPC em isolados de Enterobacterales com resistência às cefalosporinas de subclasse III e sensibilidade diminuída aos carbapenêmicos e a utilização do teste de triagem que permitisse detectar a inativação do antimicrobiano. Desde então algumas modificações foram realizadas na técnica, tornando possível diferenciar as metalo-beta-lactamases de serino carbapenemases.[8]

Entre as consequências da pandemia da covid-19, com milhões de casos em todo mundo, existe uma grande preocupação com o aumento global da resistência aos antimicrobianos[9].

O objetivo desse estudo foi reportar a emergência de Enterobacterales produtoras de metalo-beta-lactamases no Hospital Júlia Kubitschek (HJK) da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG), um hospital geral que foi direcionado para o atendimento aos pacientes de covid-19, localizado em Belo Horizonte, Brasil. Além disso, foi avaliado se o método fenotípico mCIM eCIM foi eficiente na triagem da produção de carbapenemases.

MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo de caráter retrospectivo. Foram incluídas 128 cepas de Enterobacterales produtoras de carbapenemases isoladas entre Janeiro de 2021 a Setembro de 2021 em diversas amostras clínicas, conforme tabela 1. Isolados de amostras clínicas diferentes de um mesmo paciente foram excluídos.

No setor de microbiologia do Laboratório do HJK, a identificação das espécies é realizada por meio de testes bioquímicos tradicionais e do sistema semi-automatizado BBL Crystal® (Enteric/Nonfermenter ID System/Becton, Dickinson and Company). As Enterobacterales produtoras de carbapenemases foram triadas de acordo com o documento anual do Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) do ano corrente:[8] isolados com halo de inibição por disco difusão ≤22 mm para imipenem e meropenem e ≤21 mm para ertapenem foram consideradas suspeitos.

O teste fenotípico para a detecção de carbapenemases mCIM eCIM foi realizado conforme descrito no documento do CLSI.[8] Quando o teste indicou a detecção de metalo-beta-lactamases, as cepas foram enviadas para o Laboratório de Referência da Fundação Ezequiel Dias (FUNED) para realização da confirmação molecular por meio de reação em cadeia da polimerase (PCR) para pesquisa dos genes $bla_{KPC,}$ bla_{NDM} e bla_{OXA}. Para o teste fenotípico positivo para carbapenemases do tipo serino (KPC, OXA, dentre outras), não foi estabelecido na unidade o fluxo de encaminhar para a confirmação molecular, uma vez que, ao longo dos anos, notou-se alta concordância com o teste molecular nesses casos. Ao mesmo tempo, o laboratório de Microbiologia/HJK realizou a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) por meio do E-test® para os carbapenêmicos (Biomerieux®) e a microdiluição em caldo para a polimixina (Policimbac®-Probac do Brasil). As amostras resistentes a polimixina também foram enviadas para a FUNED para pesquisa do gene *mcr-1* (*mobilised colistin resistance*).

ÉTICA

Este trabalho foi aprovado no CEP FHEMIG, CAAE 55250422.1.0000.5119.

RESULTADOS

Durante o período do estudo foram isoladas 128 cepas produtoras de carbapenemases em diversas Enterobacterales (Tabela 2), sendo que em Janeiro houve a primeira detecção de NDM na unidade. Entre as 128 bactérias produtoras de carbapenemases, 92/128 eram do tipo serino, 32/128 eram NDM e em 1/128 foram detectados os genes bla_{KPC} e bla_{NDM}. Foram excluídas do estudo 3/128 isolados por não haver resultado molecular liberado pela FUNED devido a discrepâncias na identificação da espécie. Como nem todas as cepas classificadas como KPC pelo método fenotípico foram enviadas, o resultado pelo método molecular foi obtido em um total de 54/128 amostras.

Tabela 1

Amostras clínicas incluídas no estudo

Amostras clínicas	Frequência (n)	Porcentagem
Aspirado traqueal	32	25,00%
Lavado broncoalveolar	1	0,78%
Escarro	1	0,78%
Ferida sacral	1	0,78%
Fragmento de tecido	3	2,34%
Líquido pleural	1	0,78%
Ponta de cateter	18	14,06%
Sangue	15	11,72%
Swab retal	37	28,91%
Urina	19	14,84%
Total	128	100,00%

Tabela 2

Tipos de microrganismos e carbapenemases encontradas

Microrganismo	KPC (n)	NDM (n)	KPC + NDM (n)
Klebsiella pneumoniae	85	14	-
Proteus mirabilis	-	11	1
Providencia rettgeri	-	3	-
Escherichia coli	1	2	-
Enterobacter cloacae	2	-	-
Serratia marcescens	2	1	-
Serratia spp.	1	-	-
Providencia rustigianii	-	1	-
Pantoea agglomerans	1	-	-

Legenda: KPC=*Klebsiella pneumonia* carbapenemase; NDM = New Delhi metalo-beta-lactamases

DISCUSSÃO

A pandemia de covid-19 criou condições que favoreceram a disseminação de microrganismos resistentes aos antimicrobianos nos serviços de saúde: aumento no número e no tempo de hospitalização dos pacientes com covid-19; pacientes graves com uso prolongado de dispositivos invasivos e assistência intensiva; redução do número de profissionais de saúde e aumento da carga de trabalho; dificuldades para implementação de medidas de prevenção e controle de infecções; utilização excessiva e empírica de antimicrobianos de amplo espectro, em larga escala, para tratamento de infecções secundárias, fúngicas ou bacterianas.[9] Esse foi justamente o cenário encontrado no HJK, um hospital que foi direcionado para o atendimento a covid-19, com súbito aumento de leitos de terapia intensiva em um curto espaço de tempo.

Conforme observado por outros autores,[10] houve um aumento significativo na prevalência de bactérias produtoras de KPC quando comparado o período anterior a pandemia. Estudos internacionais indicaram que aproximadamente 70% dos pacientes hospitalizados com covid-19 receberam antibióticos, na maior parte de amplo espectro, apesar da falta de evidência de co-infecção por bactérias.[11] No HJK, foram diagnosticados 39 pacientes com Enterobacterales produtoras de KPC em 2019, principalmente em *Klebsiella pneumoniae*. No período do estudo, foram 92/128 isolados produtores de carbapenemases do tipo serino, provavelmente KPC. Em nosso hospital, antes da pandemia, apenas cepas KPC tinham sido isoladas. Em 2021 houve a emergência de NDM com a detecção em 32/128 cepas estudadas.

As New Delhi metalo-beta-lactamases (NDMs), com suas 28 variantes já descritas, são uma família de enzimas que disseminou rapidamente pelo mundo, geralmente associada à prognósticos ruins e alta mortalidade.[2] Conforme demostrado na tabela 2, nota-se que, apesar do predomínio de *Klebsiella pneumoniae* entre os isolados KPC, para a NDM é marcante a emergência em outras espécies como *Proteus mirabilis* (12/33). A aquisição de genes de resistência nessa espécie, além de outros gêneros como *Providencia* spp. e *Serratia* spp., torna-se ainda mais preocupante, uma vez que são bactérias intrinsecamente resistentes às polimixinas, limitando ainda mais o número de antimicrobianos disponíveis para o uso clínico.[2]

Gao et al.[12] relatou a emergência de Klebsiella pneumoniae resistente aos carbapenêmicos (CRKP) e produtoras de KPC-2 e NDM-1. Ensaios de transferência de plasmídios e

análises filogenéticas sugeriram que a CRKP KPC2-NDM1 emergiu de uma CRKP progenitora que adquiriu outro plasmídio altamente transferível portando o gene blaNDM-1. Além disso, testes de estabilidade mostraram que esses isolados eram estáveis e tinham capacidade de transmissão entre pacientes.

Esse relato é preocupante uma vez que em nosso estudo foi detectada uma cepa de *Proteus mirabilis* com teste fenotípico positivo para metalo-beta-lactamases e com a presença dos genes blaKPC e blaNDM, gerando a preocupação de uma possível disseminação na unidade e maior limitação das opções terapêuticas já tão escassas. Dados do Laboratório Central do Estado do Paraná (LACEN-PR) mostram Enterobacterales positivas concomitantemente para blaKPC e blaNDM em até 8% do total de isolados positivos para estes genes.[4] Gao et al.[12] mostrou, por meio de testes de sensibilidade aos antimicrobianos, que o composto ceftazidime-avibactam, recém introduzido em alguns países para tratamento de bactérias produtoras de KPC, tinham pouco efeito nas cepas que continham os dois genes para KPC e NDM.

A criticidade desse cenário de resistência é agravada pela elevada taxa de resistência a outros antimicrobianos. Geralmente os genes que codificam as carbapenemases estão localizados em plasmídios, que também carregam outros genes de resistência para os aminoglicosídeos e quinolonas.[2] No entanto, a resistência a outros antimicrobianos não foi avaliada por não ser o objetivo desse estudo.

O teste mCIM eCIM é um método fenotípico desenvolvido para detectar e classificar as carbapenemases entre metalo-beta-lactamases e as do tipo serino (KPC, OXA, dentre outras), baseado na inibição da atividade da enzima pelo agente quelante EDTA (Ácido etilenodiamino tetra-acético). No Setor de Microbiologia do HJK, após a triagem por meio de metodologia de disco difusão, as cepas com sensibilidade diminuída aos carbapenêmicos foram testadas pelo método. Nesse trabalho, observou-se uma boa concordância entre o método fenotípico e o molecular. Quando foram analisadas as amostras onde houve resultado molecular pela FUNED e o fenotípico (54/128), observou-se a concordância entre 47/54. Entre essas cepas foram 4/54 resultados indeterminados, 1/54 negativo pelo método fenotípico e 2/54 discordantes. Assim, o método mCIM eCIM mostrou-se útil na triagem da produção de carbapenemases, além de possibilitar a classificação rápida do tipo, com a liberação do resultado em 24 horas. Esse dado é importante para orientar a terapia antimicrobiana, uma vez que o composto ceftazidime-avibactam, recém introduzido na instituição, é uma potente opção terapêutica no tratamento de infecções por KPC.[13]

Entre as espécies incluídas no estudo e que não apresentam resistência intrínseca, foram encontrados 22/99 isolados de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a polimixina, sendo que 15/22 eram KPC e 7/22 NDM. Estudos recentes alertam para o aumento significante da resistência à polimixina em Enterobacterales produtoras de carbapenemases, sugerindo uma forte associação entre a presença de carbapenemases e a diminuição da atividade da polimixina.[2] As cepas que apresentaram resistência foram enviadas para o laboratório de referência da FUNED para pesquisa do gene mcr-1 (*mobilised colistin resistance*) e todos os isolados foram negativos, mostrando que a resistência está relacionada provavelmente a genes cromossomais.

CONCLUSÃO

Com a escassez de dados locais torna-se difícil prever o impacto que essa pandemia pode causar no aumento da disseminação de microrganismos resistentes. Assim, é importante descrever a emergência de Enterobacterales produtoras de metalo-beta-lactamases em um Hospital de Referência para covid-19. Além disso, o teste fenotípico mCIM eCIM mostrou-se uma boa ferramenta na triagem da produção e na classificação das carbapenemases na instituição.

AGRADECIMENTOS

Aos funcionários do Setor de Microbiologia/HJK pelo suporte na condução desse estudo.

REFERÊNCIAS

1. Vivas R, Dolabella SS, Barbosa AT, Jain S. Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase and New Delhi metallo-beta-lactamase-positive *K. pneumoniae* in Sergipe, Brazil, and combination therapy as a potential treatment option. Rev Soc Bras Med Trop. 2020; 53:e20200064.
2. Zhang Z, Guo H, Li X, et al. Genetic Diversity and Characteristics of bla_{NDM}-Positive Plasmids in *Escherichia coli*. Front Microbiol. 2021;12:729952. Published 2021 Nov 16. doi:10.3389/fmicb.2021.729952
3. Firmo EF, Beltrão EMB, Silva FRF, Alves LC, Brayner FA, Veras DL, Lopes ACS. Association of bla_{NDM-1} with bla_{KPC-2} and aminoglycoside-modifying enzyme genes among *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* and *Serratia marcescens* clinical isolates in Brazil. J Glob Antimicrob Res. 2020; 21:255-261.
4. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota Técnica GVIMS/GGTES/ANVISA N°01/2013. Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multiresistentes. Brasília (DF);2013.
5. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota Técnica GVIMS/GGTES/ANVISA N°01/2021. Identificação de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenêmicos, produtoras de KPC e NDM. Brasília (DF);2021.
6. Viegas DM, Soares VM. Prevalence or carbapenemase in Enterobacteriaceae with decreased susceptibility to carbapenems isolated in a tertiary referral hospital. J Bras Patol Med Lab. 2018;54(2):95-98.

7. Tshisevhe VS, Lekalakala MR, Tshuma N, Janse van Rensburg S, Mbelle N. Outbreak os carbapenem-resistant *Providencia rettgeri* in a tertiary hospital. S Afr Med J. 2016; 107(1):31-33.
8. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100-Ed31:2021.
9. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota Técnica GVIMS/GGTES/ANVISA N°05/2021. Orientações para prevenção e controle da disseminação de microrganismos multirresistentes em serviços de saúde no contexto da pandemia da covid-19. Brasília (DF);2021.
10. Dumitru IM, Dumitrascu M, Vlad ND, Cernat RC, Ilie-Serban C, Hangan A, Slujitoru RE, Gherghina A, Mitroi-Maxim C, Curtali L, Carp DS, Dumitrescu A, Mitan R, Lesanu R, Rugina S. Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Associated with COVID-19. Antibiotics. 2021; 10(5):103390.
11. Arteaga-Livias, K., Pinzas-Acosta, K., Perez-Abad, L., Panduro-Correa, V., Rabaan, A., Pecho-Silva, S., & Dámaso-Mata, B. A multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* outbreak in a Peruvian hospital: Another threat from the COVID-19 pandemic. Infection Control & Hospital Epidemiol. 2022; 43(2):267-268.
12. Gao H, Liu Y, Wang R, Wang Q, Jin L, Wang H. The transferability and evolution of NDM-1 and KPC-2 co-producing *Klebsiella pneumoniae* from clinical settings. EBioMedicine. 2020;51:102599.
13. Lopes E, Saavedra MJ, Costa E, de Lencastre H, Poirel L, Aires-de-Sousa M. Epidemiology of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in northern Portugal: predominance of KPC-2 and OXA-48. J Glob Antimicrob Resist 2020;22:349–53.

Infecções da corrente sanguínea por *Candida* spp. em unidade de terapia intensiva de adultos de hospital terciário na Região Sudeste do Brasil

Bloodstream infections by Candida *spp. in adult intensive care unit of a tertiary hospital in the southeast region of Brazil*

Íria Rigoti Andrade[1], Bruno Spalenza da Silva[2], Gabriela Stefenoni Costa[1], Alecsandro dos Santos Dala Fina[3]

[1] Farmacêutica Residente em terapia intensiva – Graduação em Farmácia /Centro Universitário do Espírito Santo (UNESC). Colatina, ES, Brasil.

[2] Mestre em Nutrição e biotecnologia alimentar/ Centro Universitário do Espírito Santo (UNESC). Colatina, ES, Brasil.

[3] Especialista em microbiologia – Graduado em farmácia/Centro Universitário do Espírito Santo (UNESC). Colatina, ES, Brasil.

Resumo

Candida é uma levedura fortemente associada à infecção de corrente sanguínea geralmente relacionada ao uso de dispositivos invasivos e à assistência à Saúde (IRAS) e da qual se evidencia um considerável aumento nos últimos anos, principalmente a espécie do gênero *Candida glabrata*. O estudo expõe uma análise retrospectiva de 14 casos de fungemia no Hospital e Maternidade São José, região central do estado do Espírito Santo, no período de janeiro de 2019 a julho de 2020. *Candida glabrata* foi a espécie mais prevalente (78,57%), seguida de *Candida albicans* (7,14%) e *Candida* spp. (14,29%). A idade dos pacientes variou de 22 a 88 anos com uma média de 66 anos, sendo oito do sexo masculino (57,14%) e seis do sexo feminino (42,86%). As condições de risco encontradas com prevalência foram: longo período de internação (média 31 dias), utilização de cateter venoso central (100%), sonda vesical (100%), ventilação mecânica (90%) e uso prévio de antibióticos de amplo espectro (100%). A alta taxa de mortalidade foi evidenciada com a evolução de 11 (79%) pacientes a óbito. Assim, este estudo destaca tendências preocupantes na prevalência e mortalidade de pacientes com fungemia por *Candida*, em UTIs adulto, em que se objetivou realizar um levantamento do perfil epidemiológico das leveduras isoladas em pacientes críticos.

Palavras-chave: *Candida*; Infecções Oportunistas; Hemocultura

Abstract

Candida is a yeast strongly associated with bloodstream infection generally related to the use of invasive devices and health care (HAI) and has shown a considerable increase in recent years, especially the species of the genus Candida glabrata. The study exposes a retrospective analysis of fourteen cases of fungemia in the Hospital and Maternidade São José, central region of the state of Espírito Santo, from January 2019 to July 2020. Candida glabrata was the most prevalent species (78.57%) , followed by Candida albicans (7.14%) and Candida spp. (14.29%). The age of the patients ranged from 22 to 88 years with an average of 66 years, with eight being male (57.14%) and six female (42.86%). The prevalent risk conditions were: long hospital stay (average 31 days), use of central venous catheter (100%), bladder catheter (100%), mechanical ventilation (90%) and previous use of broad-spectrum antibiotics (100%). The high mortality rate was evidenced by the evolution of 11 (79%) patients who died. Thus, this study highlights worrying trends in the prevalence and mortality of patients with Candida fungi in adult ICUs, and aimed to survey the epidemiological profile of isolated yeasts in critically ill patients.

Keywords: Opportunistic Infections; Candida; Blood Culture

Correspondência
Íria Rigoti Andrade
E-mail: iriarigotti@gmail.com

Recebido em 03/02/2021 | Aprovado em 04/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202104

INTRODUÇÃO

Unidade de Terapia Intensiva (UTI) é a área da medicina que cuida do paciente crítico, pacientes definidos pelos critérios de instabilidade fisiológica, falência orgânica e necessidade de monitoramento contínuo através de diversos dispositivos invasivos de suporte à vida. Neste cenário, a complexidade do quadro destes pacientes e a incidência de infecções fúngicas sistêmicas, também conhecidas como fungemia ou candidemia, têm se elevado consideravelmente durante as últimas décadas, demonstrando elevados índices de mortalidade dos pacientes.

O presente artigo expõe uma análise retrospectiva de 14 casos de infecções de corrente sanguínea desencadeadas pela *Candida spp.,* em uma UTI adulto, relacionado ao perfil sociodemográfico dos pacientes, a fatores de risco, a antifúngicos utilizados no tratamento e ao índice de mortalidade no período de janeiro de 2019 a junho de 2020.

Frente o exposto, tem-se como objetivo principal demonstrar o gênero prevalente de candidemia neste cenário hospitalar e relacionar com suas características que são fatores de risco e realizar o levantamento do índice de mortalidade. A população estudada baseia-se nos casos de pacientes internados nas duas UTIs geral adulto do Hospital e Maternidade São José (HMSJ) que desenvolveram infecções de corrente sanguínea ocasionadas por leveduras e comprovadas através de pelo menos uma hemocultura positiva para *Candida* spp., no período de janeiro de 2019 a julho de 2020. A amostra foi gerada através do levantamento de dados dos pacientes transversalmente ao prontuário eletrônico PEP SOUL® e dos relatórios parciais e laudos do laboratório de microbiologia próprio do hospital.

Sendo assim, este estudo destaca tendências preocupantes na incidência e mortalidade de pacientes críticos que desenvolveram fungemia, e a importância de reportar os dados encontrados de candidemias ocasionadas pelas espécies não *albicans* no setor de terapia intensiva adulto, para que sejam implementadas medidas preventivas para diminuir o risco de IRAS e protocolos específicos para tratamento desses casos de fungemia, desde a suspeita, através da instituição de terapia empírica de acordo com o perfil encontrado, em busca de diminuir o índice de mortalidade.

Infecções de corrente sanguínea estão fortemente relacionadas à assistência à saúde, em que geralmente estas fungemias estão associadas a dispositivos intravasculares, podendo ocorrer formação de biofilme microbiano, principalmente os de longa permanência, podendo aumentar na incidência de morbimortalidade de pacientes hospitalizados e imunossuprimidos.[1,2]

As leveduras do gênero *Candida* podem ser encontradas em diversos ecossistemas, fazendo parte, assim, da microbiota do homem e de alguns animais. Estes microrganismos degradam proteínas e carboidratos para obterem carbono e nitrogênio, macronutrientes essenciais para seu desenvolvimento. Possuem capacidade adaptativa de se replicar tanto na presença de oxigênio quanto em anaerobiose, se reproduzem de maneira assexuada, por meio de estruturas chamadas de conídios. São leveduras comensais, que habitam primariamente no trato gastrointestinal, podendo fazer parte da microbiota vaginal, da uretra e dos pulmões. No entanto, podem se tornar patogênicas quando ocorre um desequilíbrio em sua relação com o hospedeiro, por isso são considerados oportunistas.[3]

A candidemia é considerada um grave problema de saúde pública, podendo acontecer tanto em regiões desenvolvidas como em países em desenvolvimento. A gravidade de complicação da doença associada com doenças crônicas subjacentes pode aumentar o tempo de internação hospitalar, além de gerar maiores custos socioeconômicos.[3] Atualmente estudos mostram que a incidência de infecções da corrente sanguínea por leveduras do gênero *Candida* têm demonstrado elevado crescimento, em razão da sua capacidade de colonização e oportunismo, gerando desafios terapêuticos decorrentes do desenvolvimento de resistência a alguns antifúngicos.[4]

Em estudo adjacente realizado nos EUA, foram analisados 24.179 casos de infecções por *Candida*, da qual foi possível analisar que esta foi a quarta causa mais comum de internações hospitalares. Oportuno se torna mencionar que um estudo na Suíça reportou que a *Candida spp*. foi a sétima causa de infecção hospitalar mais comum de corrente sanguínea de média complexidade.[5]

A incidência de candidíase disseminada, incluindo a infecção da corrente sanguínea, aumentou significativamente nas últimas décadas. *As* espécies de *Candida* se tornaram prevalente em fungemias em pacientes hospitalizados e nos EUA se tornaram a quarta causa mais comum de infecções hospitalares de corrente sanguínea. A candidemia está associada a uma internação hospitalar prolongada, resultando em aumento de custos e alta mortalidade de 25% a 60%. [6]

As infecções causadas por *Candida spp*. são principalmente de linhagem endógena e podem resultar em proliferação ou alterações na microbiota humana normal, tendo como fatores de risco principais: administração ao longo prazo de antibióticos de amplo espectro, cirurgias,

transplantes de órgãos, procedimentos invasivos, nutrições nasogástricas, sonda uretral, hemodiálise, ventilação mecânica e outros tratamentos.[4]

Seus principais mecanismos de virulência são a capacidade de expressão enzimática extracelular, fosfolipases e proteinases que agem degradando o tecido do hospedeiro, além de algumas outras substâncias tóxicas que provocam lesão celular, sua capacidade de adesão às células e tecidos, além de formação de biofilmes sobre células e superfícies inanimadas.[4]

O diagnóstico precoce é essencial para que o tratamento farmacológico seja rapidamente implementado, aumentando assim a probabilidade de cura. A disponibilidade de fármacos antifúngicos é restrita, necessitando de indicação criteriosa, para evitar o surgimento de novos microrganismos resistentes, o que por muitas vezes dificulta o tratamento farmacológico do paciente. O método de isolamento/diagnóstico utilizado no laboratório é a hemocultura, realizada em processo automático, com sensibilidade de 30% a 50%, requerendo muito tempo de incubação da amostra, de acordo com a espécie, sendo em média 35,3 ± 18,1 horas para crescimento de *Candida albicans*, e 80 ± 22,4 horas para *Candida glabrata*, levando a um diagnóstico tardio. Após um resultado positivo na hemocultura, é feito um repique no ágar cromogênico *Candida* para que se possa isolar/identificar a espécie, cujas principais são: *Candida albicans, Candida tropicalis, Candida krusei, Candida parapsilosis, Candida glabrata.* A identificação da morfologia faz parte do processo de identificação e é essencial.[3,5]

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo é do tipo descritivo, transversal, retrospectivo, exploratório, documental e com abordagem quantitativa. A pesquisa foi realizada no Hospital e Maternidade São José – HMSJ, hospital vinculado à instituição de ensino Centro Universitário do Espírito Santo, situado no município de Colatina/ES. A população estudada é composta de pacientes internados nas duas UTIs geral adulto do HMSJ que desenvolveram infecções corrente sanguínea ocasionada por leveduras, comprovada através de pelo menos uma hemocultura positiva para *Candida spp.,* no período de janeiro de 2019 a julho de 2020.

Os procedimentos microbiológicos de identificação realizam-se através da coleta de duas amostras de hemoculturas, contendo em cada cerca de 8 a 10 mL de sangue do paciente, onde consecutivamente o material deve permanecer incubado no equipamento BacT/Alert® devidamente validado, durante 10 dias. Após a evidência de positivação, procede-se com o repique em placa de ágar sangue, onde a amostra permanece incubada a 37ºC por 72 horas, com necessidade de realização da técnica de coloração Gram e observação do aspecto e morfologia para identificação. Posteriormente, faz-se a semeadura e incubação a 37ºC da amostra isolada em ágar *Candida* por mais 72 horas, onde distingue-se o tipo de *Candida* através do aspecto colorimétrico de cada espécie, de acordo com a bula do fabricante do ágar em questão.

A amostra foi gerada através do levantamento de dados dos pacientes transversalmente ao prontuário eletrônico PEP SOUL® e dos relatórios parciais e laudos do laboratório de microbiologia próprio do hospital. A coleta dos dados foi realizada no mês de dezembro de 2020, após aprovação do Comitê de Ética.

Foram utilizadas como ferramenta de coleta de dados um instrumento planilhado, estruturado, elaborado pelo pesquisador responsável, com variáveis relacionadas ao perfil sociodemográfico e clínico dos pacientes abordados pelo estudo. Os dados foram quantificados, tabulados e analisados estatisticamente, utilizando a planilha Software Microsoft Office Excel, versão 2016, para a construção dos gráficos e tabelas. Os dados coletados foram submetidos à análise estatística descritiva, utilizando o software Minitab18®.

ÉTICA

A pesquisa aqui descrita foi realizada em conformidade com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), do Centro Universitário do Espírito Santo, através do Parecer nº 4.447.612, deferido no dia 08 de dezembro de 2020.

RESULTADOS

Foram analisados os prontuários de 14 pacientes com diagnóstico de infecção de corrente sanguínea por *Candida*, durante o período de internação nas UTIs adulto do HMSJ. A espécie do gênero *Candida glabrata* foi a mais prevalente (78,57%), seguida de *Candida albicans* (7,14%) e de *Candida spp.* (14,29%) (Gráfico 1).

Em relação às características sociodemográficas e de internação, observa-se maior prevalência de infecções nos pacientes do sexo masculino (57,14%) e em pacientes acima de 41 anos (92,86%). O tempo de internação foi superior a 8 dias em 57,14% dos casos, com média e DP de 31 ± 32,04, tempo mínimo de permanência de 2 dias e máximo de 68 dias (Tabelas 1 e 2).

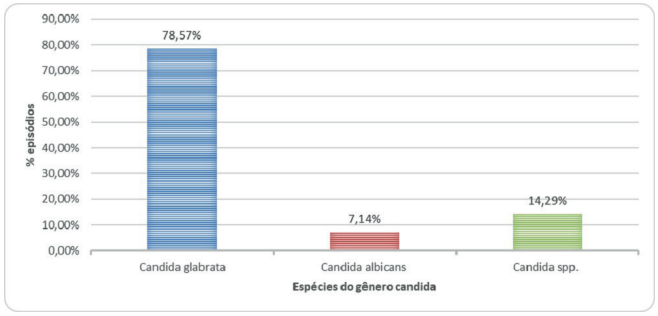


Gráfico 1

Perfil epidemiológico dos isolados fúngicos dos pacientes

Tabela 1

Perfil sociodemográfico e de internação relacionado ao desfecho alta/óbito dos pacientes avaliados.

Variáveis	*Desfecho*		
	Alta n(%)	**Óbito n(%)**	**Total n(%)**
Sexo			
Feminino	0 (0)	6 (54,5)	6 (42,86)
Masculino	3 (100)	5 (45,5)	8 (57,14)
Faixa etária			
18-40 anos	1 (33,33)	0 (0)	1 (7,14)
41-88 anos	2 (66,66)	11 (100)	13 (92,86)
Tempo de internação na UTI			
Até 7 dias	0 (0)	1 (9,09)	1 (7,14)
8 dias - 30 dias	1 (33,33)	7 (63,64)	8 (57,14)
31 dias ou mais	2 (66,66)	3 (27,27)	5 (35,71)

Tabela 2

Média de internação dos pacientes.

Média	31
Desvio padrão	32,04
Variância	684,66
n amostral	14

Entre as condições associadas aos fatores de risco mostradas no Gráfico 2, as mais frequentes foram uso de antibióticos (100%), uso de sonda vesical (100%), presença de cateter intravascular (100%), ventilação mecânica (90%), uso de corticosteroide (72%), hemodiálise (57%), cirurgia prévia (43%), nutrição parenteral (36%), sendo 29% dos acometidos pacientes oncológicos.

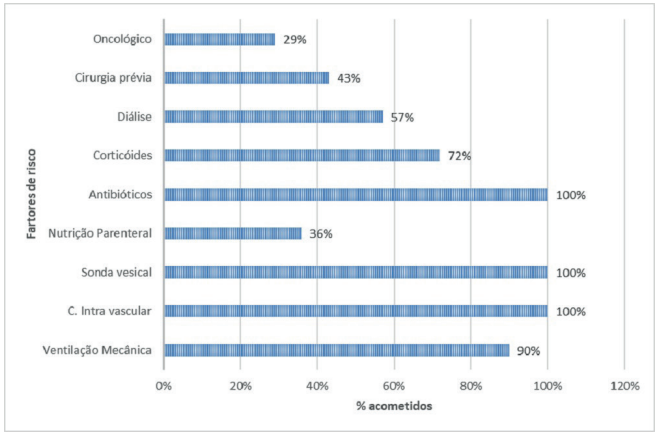


Gráfico 2

Correlação associados aos fatores de risco

Quatro pacientes (28,57%) receberam a terapia empírica com fluconazol, porém apenas 1 deles foi diagnosticado com *Candida albicans*, que possui sensibilidade inata ao azólico. Os demais pacientes tiveram seu tratamento escalonado para anfotericina e micafungina (Gráfico 3).

Alguns pacientes (28,57%) não receberam terapia antifúngica devido os resultados microbiológicos terem sido liberados no *post mortem*.

Após liberação da microbiologia com evidência de *Candida glabrata*, 4 (28,57%) dos pacientes receberam terapia guia com anfotericina B e 6 (42,86%) dos pacientes foram tratados com o antifúngico equinocandina, micafungina (Gráfico 3).

Apesar da maioria (71,43%) dos pacientes terem recebido tratamento antifúngico os 50% desta mesma porcentagem apresentou eficácia na resposta da terapêutica introduzida, comprovada através da negativação de hemoculturas posteriores, no entanto a taxa de mortalidade total foi de 78,57%, conforme representado pelo Gráfico 4.

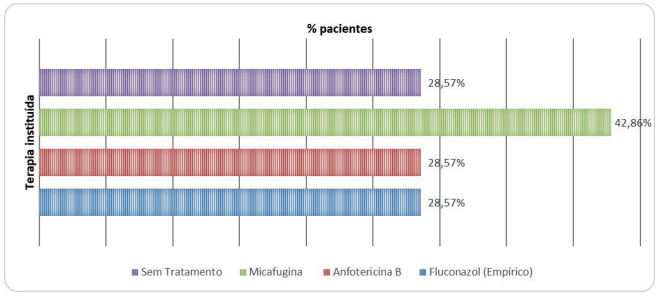


Gráfico 3

Correlação da terapêutica instituída

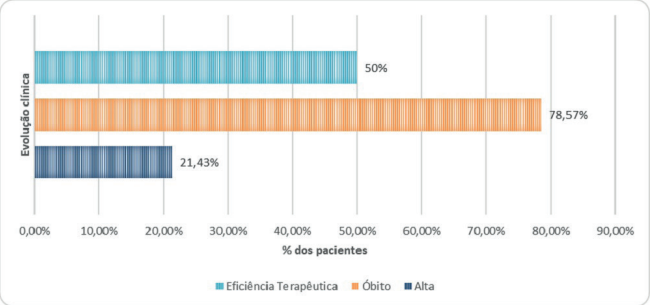


Gráfico 4

Correlação do índice de mortalidade e desfechos clínicos.

DISCUSSÃO

Conforme já visto no Gráfico 1, a predominância de fungemias ocasionadas pela espécie *Candida glabrata* é justificável em vários estudos que apontam sua maior incidência em pacientes adultos e principalmente idosos, que é o perfil das UTIs em que o estudo foi realizado, contrastando com os trabalhos da América do Norte que também observam a maior ocorrência de *C. glabrata* devido ao mesmo público estudado. A maioria dos estudos brasileiros aponta predominância de fungemias pela espécie *C. albicans*, e dentre as espécies não *albicans*, maior incidência de *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, além de demonstrar um pequeno número de ocorrência de *Candida glabrata*.

O tempo de internação foi superior a 8 dias em 57,14% dos casos (Tabela 1), com média de 31 dias conforme visto na Tabela 2. As candidemias são mais frequentes em pacientes com longo período de exposição hospitalar, e após a infecção pelo fungo apresentam maior tempo de internação e custos para o hospital.

Os fatores predisponentes a infecção de corrente sanguinea ocasionada por leveduras se devem ao fato de os pacientes apresentarem maior vulnerabilidade através de procedimentos invasivos, e os que acarretam imunodeficiência, funcionando como uma porta de entrada para patógenos oportunistas.

Diversos pesquisadores, apontam que os índices de candidemia vêm aumentando nos últimos anos, e que o diagnóstico é difícil e, na maioria dos casos, tardio, devido às técnicas de identificação hoje mais comumente utilizadas, o que aumenta a taxa de mortalidade. Existem algumas ferramentas que auxiliam na terapêutica mais adequada ao suspeitar-se de infecção por fungos, e uma delas é o escore Candida.[7]

Pesquisadores desenvolveram um sistema de pontuação que funciona como uma ferramenta de avaliação de fatores preditivos de candidemia, que pode ser realizado à beira do leito, denominado "*Candida score*". Eles examinaram a incidência de candidíase invasiva entre os pacientes de uma UTI cirúrgica com sepse, nutrição parenteral total (NPT) e colonização multifocal por *Candida*. O valor de um ponto foi atribuído a cada um dos quatro fatores de risco (colonização multifocal: 1 ponto; NPT: 1 ponto; cirurgia prévia: 1 ponto; e presença de sepse: 2 pontos). Os pacientes com pontuação superior a 2,5 obtiveram aproximadamente oito vezes mais probabilidade de ter candidemia do que os pacientes com pontuação de 2,5 ou menos.[8]

Conforme evidenciado por Leroy, o "escore de *Candida*" é uma ferramenta interessante para diferenciar, entre pacientes de UTI com sepse grave adquirida em hospital ou choque séptico, aqueles que se beneficiam com o tratamento antifúngico precoce (pontuação >3) daqueles para os quais a candidíase invasiva é altamente improvável (pontuação ≤3).[9]

Estudo realizado evidencia uma regra de predição de risco clínico para a candidíase invasiva. Entre 3.000 pacientes de UTI nos Estados Unidos e no Brasil, a combinação de vários fatores foi preditiva de candidíase invasiva em pacientes que haviam sido internados na UTI por pelo menos 3 dias.[10]

Sendo assim, o diagnóstico de um paciente com suspeita de infecção de corrente sanguínea de origem leveduriforme exige uma atenção especial do corpo clínico, surgindo como a primeira ferramenta para a hipótese diagnóstica de infecção, e quando associado aos demais métodos diagnósticos conciliam-se com o objetivo de confirmar o patógeno da doença.[11]

Assim, estudiosos afirmaram que com o objetivo de otimizar o diagnóstico de candidemia, novas tecnologias devem ser desenvolvidas para obtenção de um diagnóstico rápido, eficaz e preciso de forma a contribuir na escolha da melhor terapia antifúngica e, consequentemente, melhor prognóstico do paciente.[12]

CONCLUSÃO

Em conclusão, observamos a importância do reconhecimento prévio do perfil de microrganismos fúngicos que colonizam as unidades de terapia intensiva. A realização de estudos para levantamento do perfil epidemiológico, como investigação das espécies mais incidentes, contribui de forma positiva a fim de formular protocolos para o manejo ideal, com a finalidade de contribuir na escolha terapêutica mais

adequada, otimizar o tratamento e acarretar um melhor prognóstico e, consequentemente, reduzir o índice de mortalidade destes pacientes acometidos.

REFERÊNCIAS

1. Anvisa. Infecção de Corrente Sanguínea: Orientações para prevenção de Infecção Primária de Corrente Sanguínea. 2010. Disponível em: https://www.gov.br/ebserh/pt-br/hospitais-universitarios/regiao-sudeste/hc-uftm/documentos/protocolos-assistenciais/IPCSfinal.pdf. Acesso em: 11 Abr. 2020.
2. Prado SS. Bacteremias em pacientes com HIV em um hospital de terceiro nível na Colômbia, 2014-2016.2018. Rev Medida interna Mex. vol.34 no.3. ISSN 0186-4866. Disponível em: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0186-48662018000300003&script=sci_abstract&tlng=en. Acesso em: 11 Abr. 2020.
3. Giolo MP. Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. 2010. Rev Bras Patol Med Lab. v. 46. n. 3. p. 225-234. Disponível em: https://www.scielo.br/j/jbpml/a/jJGxZBNpPSJtMZTk7t7Khmk/abstract/?lang=pt#:~:text=Phisiopathogenesis%2C%20epidemiology%20and%20laboratory%20diagnosis%20of%20candidemia&text=Candidemia%20%C3%A9%20a%20infec%C3%A7%C3%A3o%20da,de%20pacientes%20hospitalizados%20s%C3%A3o%20C. Acesso em: 10 Abr. 2020.
4. Chang MR. Candida bloodstream infection: data from a teaching hospital in Mato Grosso do Sul, Brazil. 2008. Rev. Inst. Med, Trop. São Paulo. v. 50. P. 265-268. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/6Rwttx4GxQQfpRy5HmfB84J /abstract/?lang=en. Acesso em: 11 abr. 2020.
5. Lazo V. Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. 2018. rev. Horizmed. v.18n1. p. 75-85. Disponível em: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2018000100011. Acesso em: 10 abr. 2020.
6. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, & Edmond MB. (2004). Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 39(3), 309–317. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15306996/. Acesso em: 19 jan. 2021.
7. Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzcowski H, Vartivarian S. The Epidemiology of Hematogenous Candidiasis Caused by Different Candida Species. Clinical Infectious Diseases, [S.L.], v. 24, n. 6, p. 1122-1128, jun. 1997. Oxford University Press (OUP). Disponível em: https://academic.oup.com/cid/article/24/6/1122/339098?login=false. Acesso em: 21 jan. 2021.
8. León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Almirante B, Nolla-Salas J, Álvarez-Lerma F, Garnacho-Montero J, León MÁ. A bedside scoring system ("Candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with Candida colonization. Critical Care Medicine. [S.L.], v. 34, n. 3, p. 730-737, mar. 2006. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16505659/. Acesso em: 01 fev. 2021.
9. Leroy G, Lambiotte F, Thévenin, D, Lemaire C, Parmentier E, Devos P, & Leroy O. (2011). Evaluation of "Candida score" in critically ill patients: a prospective, multicenter, observational, cohort study. Annals of intensive care. Disponível em: https://annalsofintensivecare.springeropen.com/articles/10.1186/2110-5820-1-50 . Acesso em: 01 fev. 2021.
10. Ostrosky-Zeichner L, Sable C, Sobel J, Alexander BD, Donowitz G, Kan V, Kauffman CA, Kett D, Larsen RA, Morrison V. Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, [S.L.], v. 26, n. 4, p. 271-276, 27 fev. 2007. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17333081/ . Acesso em: 01 fev. 2021.
11. Garzillo C, Bagattini M, Bogdanović L, Popolo A di, Iula VD, Catania MR, Raimondi F, Triassi M, Zarrilli R. 2017. Risk factors for Candida parapsilosis bloodstream infection in a neonatal intensive care unit: a case-control study. Italian Journal of Pediatrics. Disponível em: https://ijponline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13052-017-0332-5 . Acesso em: 11 abr. 2020.
12. Oliveira RB, Atobe JH, Souza AS, Santos DWCL. Epidemiology of Invasive Fungal Infections in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome at a Reference Hospital for Infectious Diseases in Brazil. Mycopathologia, [S.L.], v. 178, n. 1-2, p. 71-78, 21 jun. 2014. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s11046-014-9755-3. Acesso em: 11 abr. 2020.

Tinea capitis nos adultos: série de casos e mini-revisão da literatura brasileira

Tinea capitis *in adults: case series and mini-review of brazilian literature*

Nurimar Conceição Fernandes[1], *Glória Barreiros*[2]

[1] Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Serviço de Dermatologia. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

[2] Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Laboratório de Micologia Médica. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Prezado Editor,

A *Tinea capitis* é considerada rara nos adultos devido a alguns fatores de proteção, como propriedades fungistáticas do sebo em maior quantidade, suor, maior espessura do cabelo e presença do *Pityrosporum* como um agente de competição nesta faixa etária. Adultos com histórico de diabetes, anemia, imunossupressão, uso de corticoide ou anormalidades hormonais são considerados predispostos.

O presente estudo analisa os resultados do exame micológico de couro cabeludo em 68 homens e 101 mulheres, de 20 a 92 anos, no período de 2010-2021. Estes pacientes apresentavam placas de alopecia descamativas e acinzentadas e cabelos quebrados no couro cabeludo.

Escamas e cabelos foram coletados através de raspagem com bisturi esterelizado e depilação com tesoura esterilizada.

Foram tratados com hidróxido de potássio (KOH) 20% + tinta Parker (preto permanente – Quink) (1:1) durante 30 minutos e observados ao microscópio óptico no aumento de 400x. As amostras foram semeadas no meio de Sabouraud dextrose ágar 2% (BD-DIFCO™) com cloranfenicol e no Mycosel ágar (BD-DIFCO™) incubados a 28ºC e diariamente examinadas. As culturas sem crescimento durante o período de até quatro semanas foram consideradas negativas.

A identificação fenotípica foi realizada em base morfológica. As características microscópicas foram observadas através de coloração de um fragmento da colônia com bactofenol com azul de algodão à microscopia óptica no aumento de 400x. Culturas em lâmina nos meios Potato-Dextrose ágar (BD-DIFCO™) e Benelli ágar foram montadas em lactofenol com azul de algodão, permitindo a visualização do arranjo dos conídios.

Entre os 169 pacientes, dois homens e duas mulheres mostraram positividade no exame micológico das escamas (direto e cultura) com isolamento de *Trichophyton rubrum* e *Microsporum canis*. Em três homens, a microscopia direta e a cultura foram positivas nas escamas com isolamento de *Trichophyton rubrum*, enquanto a microscopia direta e a cultura nos pelos foram negativas. Em um homem, a microscopia direta e a cultura foram negativas nas escamas, enquanto no pelo a cultura foi positiva, isolando-se de *Trichophyton rubrum*. Em uma mulher, a microscopia das escamas foi negativa, enquanto a microscopia direta e cultura foram positivas no pelo com isolamento do *Trichophyton tonsurans* (Tabela 1).

Correspondência
Nurimar Conceição Fernandes
E-mail: nurimarfernandes@terra.com.br

Recebido em 24/02/2022 | Aprovado em 30/06/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200027

Adotamos os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) para definição de idade adulta, isto é, a partir de 20 anos. Quatro casos brasileiros foram publicados no período 2010-2021 nesta faixa etária[1,2] (Tabela 2).

No presente estudo houve nível de concordância de 77,7% entre microscopia positiva e cultura positiva nas escamas e de 55,5% entre parasitismo e cultura positiva nos pelos (ver Tabela 1). A correlação entre microscopia+/cultura+ é relatada em percentuais de 42,7%[2] para todos os tipos de *Tinea*.

Nos casos com exame direto positivo somente nas escamas, consideramos necessário instituir tratamento com terbinafina (250mg/dia/6 semanas) porque as lesões eram compatíveis com *Tinea capitis* (casos 5-7).

A amostra estudada permitiu concluir que a *Tinea capitis* nos adultos não é frequente e que o *Trichophyton rubrum* predomina.

A real incidência de *Tinea capitis* nos adultos é desconhecida; a classificação inadequada da faixa etária parece-nos um fator relevante[1-5].

Tabela 1

Distribuição dos casos de *Tinea capitis* segundo idade, gênero e exame micológico.

			EXAME MICOLÓGICO			
			MICROSCOPIA	CULTURA	MICROSCOPIA	CULTURA
CASO	IDADE	SEXO	ESCAMA	ESCAMA	PELO	PELO
1	36	M	Hifas septadas	*T. rubrum*	Ectothrix	*T. rubrum*
2	37	M	Hifas septadas	*T. rubrum*	Ectothrix	*T. rubrum*
3	51	F	Hifas septadas	*T. rubrum*	Ectothrix	*T. rubrum*
4	33	F	Hifas septadas	*M. canis*	Endothrix	*M. canis*
5	53	M	Hifas septadas	*T. rubrum*	Negativa	Negativa
6	50	M	Hifas septadas	*T. rubrum*	Negativa	Negativa
7	49	M	Hifas septadas	*T. rubrum*	Negativa	Negativa
8	47	M	Negativa	Negativa	Negativa	*T. rubrum*
9	70	F	Negativa	Negativa	Endothrix	*T. tonsurans*

Fonte: Arquivos do Laboratório de Micologia Médica da Instituição.

Convenção: M= Masculino; F= Feminino.

Tabela 2

Tinea capitis nos adultos: seleção dos casos no Brasil (2010-2021).

Autor, ano	No de casos		Idade	Sexo		Dermatófitos isolados
	Amostra do estudo	Tinea capitis		M	F	
Silva, 2018[1]	268	37	0-15 anos	23	14	*T. rubrum*
		2	31-60 anos	-	2	*T. mentagrophytes*
		1	>61 anos	-	1	*M. canis, M. gypseum*
Silva-Rocha, 2017[2]	113	11	0-10 anos	*	*	*T. tonsurans, M. canis*
		1	11-20 anos	*	*	
		1	21-30 anos	*	*	
Fajardo, 2017[3]	52	4	45 anos (mediana)	*	*	*M. canis, T. mentagrophytes*
Veasey, 2017[4]	67	67	8-13 anos (mediana)	42	25	*M. canis, T. mentagrophytes, T. tonsurans*
Heidrich, 2015[5]	9.048	137	1-98 anos (faixa etária)	*	*	*T. rubrum, T. tonsurans, T. gypseum*

Fonte: Literatura estudada.

Convenção: M= Masculino; F= Feminino; *= Não mencionado; = nenhum.

REFERÊNCIAS

1. Silva KA, Gomes BS, Magalhães OMC, Lacerda Filho AM. Etiologia das dermatofitoses diagnosticadas em pacientes atendidos no Laboratório de Micologia Médica no Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, entre 2014-2017. Rev Bras Anal Clin. 2018;50(1):33-7.
2. Silva-Rocha WP, de Azevedo MF, Chaves GM. Epidemiology and fungal species distribution of superficial mycoses in Northeast Brazil. J Mycol Med. 2017;27(1):57-64. doi: 10.1016/j.mycmed.2016.08.009. Epub 2016 Sep 20.
3. Fajardo AD, Silva RR, Costa APM, Rossetto AL, Cruz RCB. Estudo epidemiológico das infecções fúngicas superficiais em Itajaí, Santa Catarina. Rev Bras Anal Clin. 2017;49(4):396-400. doi: 10.21877/2448-3877.201700584
4. Veasey JV, Miguel BAF, Mayor SAS, Zaitz C, Muramatu LH, Serrano JA. Epidemiological profile of tinea capitis in São Paulo City. An Bras Dermatol. 2017;92(2):283-4. doi: 10.1590/abd1806-4841.20175463.
5. Heidrich D, Garcia MR, Stopiglia CD, Magagnin CM, Daboit TC, Vetoratto G, et al. Dermatophytosis: a 16-year retrospective study in a metropolitan area in Southern Brazil. J Infect Dev Ctries. 2015;29(8):865-71. doi: 10.3855/jidc.5479.

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: ____/_____/_____.

Amostras para controle interno da Qualidade!

COVID-19 (SARS-CoV2)
Antígeno (Ag)
Liofilizado 0,1 mL
Nivel: Reagente e Não Reagente
Código: COVID



BIOQUÍMICA
Liofilizado 5 e 10mL
Nivel: Normal e Elevado
Cód.: BIOQ



ANTI-HIV
Liofilizado 0,5 e 2,0 mL
Nivel: Reagente e Não Reagente
Cód.: HIV



HEMATOLOGIA
(Hemoglobina, Leucócitos e Plaquetas) **Liofilizado 1,5mL**
Nivel: 1 e 2 Cód.: CIHEM





Baixe nosso catálogo com a linha completa
pncq.org.br/produtos

ANTI-HCV
Liofilizado 2 mL
Nivel: Reagente e Não Reagente
Cód.: AHCV





CHAGAS
Liofilizado 0,5 mL
Nivel: Reagente e Não Reagente
Código: CHAG



COAGULAÇÃO
Liofilizado 1 mL
Nível: Normal e Elevado
Código: COAG



HBSAG
Liofilizado 2 mL
Nivel: Reagente e Não Reagente
Código: HBSAG

PRO-IN

PRODUTOS COM QUALIDADE RECONHECIDA INTERNACIONALMENTE

PRO-EX
Controle Externo da Qualidade

Programa Básico e Programas Avançados. Solicite seu Kit Controle PNCQ.



www.**pncq**.org.br
(21) 3172-7100 | 2569-6867

PNCQ®
Programa Nacional de Controle de Qualidade

Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas