

ISSN 0370-369x



# RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas  
*Brazilian Journal of Clinical Analyses*

Volume 48 - nº 01 | Ano 2016



# PNCQ GESTOR

## Sistema de Gestão da Qualidade

### Software PNCQ Gestor, Curso para Implantação do Sistema de Gestão da Qualidade e Consultoria via e-mail.

O PNCQ Gestor auxilia os Laboratórios Clínicos a elaborar e controlar os documentos de um Sistema de Gestão da Qualidade, a fim de solicitar a Auditoria de Acreditação pelo DICQ.

De fácil operação, o software apresenta mais de 80 modelos de documentos elaborados para um laboratório fictício, com a possibilidade de serem livremente adaptados à sua realidade. Também é possível criar pastas e importar documentos para o sistema, em diversos formatos.

**Confira as datas e cidades de cursos para o ano de 2016 em todas as regiões do País em nosso site.**



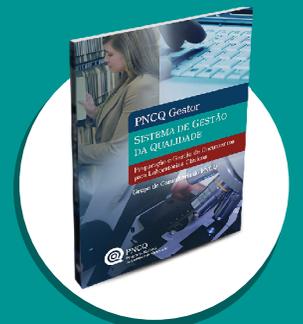
## CARACTERÍSTICAS DO SOFTWARE

- Melhorias na formatação dos documentos
- Maior capacidade de armazenamento
- Configurações e permissões personalizadas
- Relatório de atividades dos usuários
- Criação de usuários ilimitada



## e ainda:

- Legislação de referência
- Criação de pastas e importação de documentos
- Cópia de segurança
- Instalação em rede
- Suporte Técnico



Os modelos de documentos do PNCQ Gestor atendem aos requisitos do Manual para Acreditação do Sistema de Gestão da Qualidade de Laboratórios Clínicos do Sistema Nacional de Acreditação – DICQ/SBAC aplicado à norma brasileira ABNT NBR ISO 15189:2015 – Laboratórios Clínicos – Requisitos de Qualidade e Competência.

## Nossas Certificações:



O PNCQ é acreditado pelo Cgcre do INMETRO como Provedor de Ensaio de Proficiência em conformidade com a ISO/IEC 17.043 sob o número 0013



Habilitação ANVISA REBLAS 009 Provedor de Ensaio de Proficiência



Certificado ANVISA BPF Provedor de Fábricação

Empresa certificada pela ABNT em conformidade com a ABNT NBR ISO 9001:2008 sob o número 23.008/04



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

Rua Vicente Licínio, 193 - Tijuca - Rio de Janeiro | RJ | CEP: 20270-340  
Tel/Fax: 55 (21) 2569 - 6867 | e-mail: [pncq@pncq.org.br](mailto:pncq@pncq.org.br) | Site: [www.pncq.org.br](http://www.pncq.org.br)

**CARTA DO PRESIDENTE/LETTER FROM THE PRESIDENT**

**1** Aquino JL

**EDITORIAL/EDITORIAL**

**4** RBAC online: Navegando em novas águas  
*RBAC online: Navigating new waters*  
 Neufeld PM

**ARTIGO DE REVISÃO/REVIEW**

**7** Taxa de filtração glomerular estimada em adultos: características e limitações das equações utilizadas  
*Glomerular filtration rate estimated in adults: characteristics and limitations of equations used*  
 Brito TN, Oliveira AR, Silva AK

**13** Fatores de risco e principais alterações citopatológicas do câncer bucal: uma revisão de literatura  
*Risk factors and major cytopathological changes of oral cancer: a review of literature*  
 Freitas RM, Rodrigues AM, Matos Júnior AF, Oliveira GA

**ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO/UPDATE**

**19** Aspectos da aplicabilidade da análise da curva de *melting*  
*Applicability aspects of the melting curve analysis*  
 Tomaz PR, Santos JR, Santos PC

**24** Acidentes de trabalho com material biológico no setor hospitalar  
*Accidents at work with biological material in hospital sector*  
 Luz RF, Beretta AL

**ARTIGO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE**

**27** Colonização por MRSA no projeto piloto do estudo SHIP-Brasil  
*MRSA colonization in the pilot project of the SHIP-Brazil study*  
 Feldhaus JC, Botelho TK, Yamanaka CN, Oliveira AC, Da Silveira JG, Cordova CM

**33** Suscetibilidade a antifúngicos e fatores de virulência de *Candida* spp. isoladas em Russas, Ceará  
*Antifungal susceptibility and virulence factors of strains Candida spp. isolated in Russas, Ceará*  
 Menezes EA, Barbosa ACL, Cunha MCSO, Mendes LG, Cunha FA

**39** Importância da qualidade da coleta do exame preventivo para o diagnóstico das neoplasias glandulares endocervicais e endometriais  
*Importance of the sample collections quality in pap smear for diagnosis of glandular endocervical and endometrial cancers*  
 Ughini SF

**46** Perfil lipídico de pacientes pediátricos  
*Lipid profile in pediatric patients*  
 Rover MR, Kupek E, Delgado RC, Souza LC

**53** Análise microbiológica de polpas de açaí comercializadas na cidade de São Paulo  
*Microbiological analysis of the acai berry products marketed in the city of São Paulo*  
 Santos BA, Campofiorito MC, Pinto JL, Penteado SH, Fonseca FL, Gehrke FS

**COMUNICAÇÃO BREVE/SHORT COMMUNICATION**

**58** Monitoramento da qualidade da coloração de Papanicolaou no Instituto Nacional de Câncer  
*Papanicolaou staining quality monitoring in National Institute of Cancer*  
 Araujo Junior ML, Santana DA, Almeida LB, Ribeiro FP, Guimarães CB, Carvalho FL, Pires CL

**63** Prevalência de micoses superficiais em pacientes ambulatoriais da região metropolitana de Porto Alegre, RS  
*Superficial mycoses prevalence in outpatients of Porto Alegre metropolitan region, RS*  
 Schünemann M, Nunes PR, Oliveira MS

**68** Avaliação de contaminação bacteriana de mobiliário de laboratório de microbiologia de uma universidade do Rio Grande do Sul  
*Evaluation of the bacterial contamination of microbiology laboratory furniture of a Rio Grande do Sul university*  
 Rodrigues JA, Weissmann AG, Telles TM, Mello RN

**74** Pesquisa de bacilos Gram negativos não fermentadores no interior do corpo de torneiras em hospital privado  
*Research of non-fermenting Gram negative bacilli isolated from the interior of taps bodies of a private hospital unit*  
 Silva AO, Alvarenga J, Guedes MR, Firmino R, Pereira CA

**78** Relação entre enteroparasitoses e alterações hematológicas em crianças da região centro-oeste do Paraná  
*Relationship between enteroparasitosis and hematological changes in children in midwest of Paraná*  
 Mariot Netto A, Souza Brito MG, Pavanelli MF

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

# RIBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas  
Brazilian Journal of Clinical Analysis

## Editor-chefe/Editor-in-Chief

Paulo Murillo Neufeld (RJ)

## Editores Eméritos/Honorary Editors

Mateus Mandu de Souza (RJ)

## Editores Associados/Associate Editors

Mauren Isfer Angebem Oliveira (PR)

Paulo Jaconi Saraiva (RS)

Lauro Santos Filho (PB)

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

## Publicação Trimestral/Quarterly Publication

Assinatura anual/Annual Subscription  
R\$ 195,00

Assinatura Internacional  
Foreign Annual Subscription  
US\$ 48,00

Produção Editorial e Gráfica/Publisher  
Trasso Comunicação Ltda

Tiragem/Circulation  
5.200 exemplares/Copies

# SBAC

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

## DIRETORIA EXECUTIVA / EXECUTIVE BOARD

Jerolino Lopes Aquino (MT)  
Presidente/President

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

Jairo Epaminondas Breder Rocha (RJ)  
(in memoriam)  
Secretário-Geral/General Secretary

Luiz Roberto dos Santos Carvalho (BA)  
Secretário/Secretary

Estevão José Colnago (RJ)  
Tesoureiro/Treasurer

Marcos Kneip Fleury (RJ)  
Tesoureiro Adjunto/Assistant Treasurer

## Conselho Fiscal/Fiscal Board Titulares / Holders

Mauren Isfer Angebem Oliveira (PR)  
Maria da Conceição de L. Oliveira (SE)  
Lenira da Silva Costa (RN)

## Suplentes/Alternates

Gilcilene Maria dos Santos (DF)  
Jorge Luiz Joaquim Terrão (ES)  
Paulo Roberto Hatschbach (PR)

Diretor Executivo/ Director Executive  
Luiz Fernando Barcelos (RS)

## Endereço para correspondência/Editorial Office

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

## Afiliações/Affiliations



## Comitê Editorial/Editorial Board

### Bioquímica Clínica/Clinical Biochemistry

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

### Citologia Clínica/Clinical Cytology

Rita Maria Amparo Bacelar Palhano (MA), Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ), Carlos Eduardo de Queiroz Lima (PE), Rita Gorete Amaral (GO), Alexandre Sherley Casimiro Onofre (SE), Sílvia Helena Rabelo Guimarães (GO)

### Controle de Qualidade/Quality Control

José Abol Corrêa (RJ), Luís Fernando Barcelos (RS), Mateus Mandu de Souza (RJ), Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), Gabriel de Souza Lima Oliveira (SP)

### Endocrinologia/Endocrinology

Carlos Alberto Camargo (SP), Ana Maria Menezes (SP)

### Toxicologia/Toxicology

Regina Helena Queiroz (SP), Maria da Graça Almeida (RN)

### Microbiologia Clínica/Clinical Microbiology

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

### Imunologia Clínica/Clinical Immunology

Mateus Mandu de Souza (RJ), Paulo Jaconi Saraiva (RS), Antônio Walter Ferreira (SP), Adelaide José Vaz (SP), Sílvia Fernandes R. da Silva (CE), Manuela Berto Pucca (SP)

### Parasitologia Clínica/Clinical Parasitology

Antônio Pedro Soares (MG), Geraldo Atilio de Carli (RS), Jerolino Lopes Aquino (MT), Alverne Passos Barbosa (GO), Mauren Isfer Angebem Oliveira (PR)

### Micologia Clínica/Clinical Mycology

Paulo Murillo Neufeld (RJ), Maria José Gianini (SP), Regina Célia Candido (SP), Rosane Rhan (MT)

### Biologia Molecular/Molecular Biology

Mario Hiroyuki Hirata (SP), Rosário Dominguez Crespo Hirata (SP), Marcelo Ávila Mascarenhas (RS), Kelly Melo (SP), Maria Elizabeth Menezes (SC)

### Hematologia Clínica/Clinical Hematology

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

## Entidades mantidas pela SBAC Entities maintained by the SBAC

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

DICQ Sistema Nacional de Acreditação/  
National System of Accreditation  
Coordenador/Coordinator: André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ)

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

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

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

## Comissões Institucionais/ Institutional Commissions

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

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

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

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

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



**Jerolino Lopes Aquino**

*Prezados Amigos,*

Uma sociedade com 49 anos de história e tradição, mas com olhar sempre à frente de seu tempo: Assim é a Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC. E é com essa visão moderna que buscamos inovar e nos atualizar sempre, mantendo-nos próximos dos profissionais das Análises Clínicas de todas as gerações.

Com um mundo cada vez mais digital, onde as informações são disponibilizadas de forma rápida e global, a SBAC se faz presente neste universo com um portal de conteúdo atualizado semanalmente, com redes sociais apresentando conteúdos diários e agora a sua revista científica, a RBAC – *Revista Brasileira de Análises Clínicas* passa a ser 100% digital. De acesso aberto e irrestrito, a revista mantém sua qualidade e características editoriais com objetivo de divulgar pesquisa científica de qualidade metodológica reconhecida nas diversas áreas das análises clínicas e da patologia clínica veterinária.

Assegurando sua credibilidade e padrões, a estrutura da RBAC *online* atende às regras do ISSN, código internacional de identificação de títulos de publicações seriadas como revistas e periódicos. Com este código, a RBAC atende, ainda, às exigências da CAPES para que a revista mantenha a sua avaliação QUALIS e referenciado pelos autores dos artigos científicos.

Com essa medida, a SBAC, mais uma vez, se reafirma como referência de conteúdo extremamente qualificado e relevante, mantendo e ampliando seu compromisso de difundir conhecimento científico, baseada na crença de que é através de pesquisa e desenvolvimento científico que se fortalece uma profissão, trazendo avanços tecnológicos que, além da produção de conhecimento, traz benefícios à população em geral.

Convidamos você a navegar pela RBAC, aprofundar seus conhecimentos, inspirar-se a compartilhar ideias e saberes e participar de forma cada vez mais ativa desse círculo virtuoso do conhecimento que a SBAC faz questão de alimentar não só com a RBAC, como também com o CEPAC – Centro de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas através dos cursos oferecidos e, ainda, com o CBAC – Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, que chega à sua 43ª edição em junho deste ano.

Sejam bem vindos à era digital!

Forte abraço,

**Dr. Jerolino Lopes Aquino**

Presidente da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC)

## **RBAC online: Navegando em novas águas**

### **RBAC online: Navigating new waters**

Em 1851, Joseph Henry previu: "*A humanidade tem seu progresso baseado em pesquisa, estudo e investigação, que geram saber, conhecimento ou, simplesmente, informação. E, praticamente, para cada item de interesse, existe algum registro de saber pertinente. A não ser que toda essa massa de informação seja armazenada de forma ordenada e que sejam especificados, corretamente, os meios em que serão divulgados os respectivos conteúdos, tanto a literatura quanto a ciência perecerão esmagadas sob seu próprio peso*".<sup>(1)</sup>

Conforme Cruz et al.,<sup>(2)</sup> a previsão de Joseph Henry acabou sendo confirmada pelo enorme crescimento e profusão de publicações científicas que ocorreram no século passado onde, inicialmente, contabilizavam-se cerca de 10 mil títulos em formato impresso e, atualmente, contabilizam-se milhões de revistas que utilizam vários suportes, em especial, o eletrônico.

Em 1973, Sondak & Schwarz foram os primeiros a conceber a ideia de um periódico em formato eletrônico. A proposta inicial desses autores era fornecer arquivos que pudessem ser lidos em bibliotecas, empregando computadores, e, por assinantes individuais, utilizando microfichas.<sup>(2)</sup> A primeira revista científica em versão eletrônica foi a *Online Journal of Current Clinical Trials*, publicada em 1992, pela OCLC [*Online Computer Library Center*], em Ohio, Estados Unidos, com textos completos e gráficos. A SciELO foi a primeira iniciativa de acesso eletrônico aberto, em países em desenvolvimento, iniciada em 1997, no Brasil, com a publicação de dez títulos de revistas, quatro da área da saúde.<sup>(3)</sup>

De maneira geral, pesquisadores consultam revistas científicas para uma atualização em suas áreas de estudos e para aplicação dos conteúdos em suas próprias pesquisas e no ensino de suas disciplinas. Na realidade, artigos científicos são lidos com muito mais frequência do que qualquer outro tipo de publicação no mundo. Pesquisadores e estudantes podem atingir a média de 188 artigos lidos por ano. Um artigo pode alcançar o número médio de 500 a 1.500 leituras/consultas, dependendo do campo da ciência. Dessa forma, uma revista científica de peso editorial pode ter bem mais de 100 mil consultas, levando-se em conta a forma tradicional de divulgação científica.<sup>(4)</sup>

Com as novas tecnologias de hipermídia, a informação científica assume, quanto à sua difusão e replicação, possibilidades quase que inimagináveis. Potencialmente, essas tecnologias facilitam e popularizam o acesso à pesquisa, estimulam a multiplicação das fontes de informação e diminuem as imposições da necessidade de espaço.<sup>(5)</sup>

De fato, segundo Castro,<sup>(3)</sup> o fluxo de comunicação científica tradicional, estruturado em etapas consecutivas e interdependentes, com um prolongado tempo entre cada uma dessas etapas, com as novas tecnologias de informação, passou a ser realizado no ambiente virtual, sem restrições temporais e físicas. A dinâmica de transmissão de informação e de publicação na Internet permitiu que as ações se sucedessem de forma concomitante e não mais em intervalos regulares.

De acordo também com Castro,<sup>(3)</sup> a publicação eletrônica de revistas científicas permitiu que os artigos passassem a estar disponíveis quase que imediatamente após aprovação pelos editores. Essa modalidade de publicação contribuiu para aumentar a visibilidade dos resultados das pesquisas e diminuir o

tempo entre a aprovação dos trabalhos e sua publicação em formato impresso. Fundamentalmente, o artigo científico passou a ser uma unidade informacional independente.

Marcondes<sup>(6)</sup> afirma que a comunidade científica tem visto as publicações eletrônicas na Rede como um efetivo e adequado meio para por em evidência e disseminar os resultados de suas pesquisas, bem como para promover e acelerar o avanço da ciência e da tecnologia. Em decorrência disso, tem sido observado, no grupo de pesquisadores e estudantes, uma forte tendência para a criação e desenvolvimento de periódicos eletrônicos, inclusive com migração total da modalidade impressa para a virtual.

Corroborando com essa ideia, Rogers<sup>(7)</sup> observou que mais da metade do corpo docente e discente de pós-graduações de universidades americanas utilizavam, preferencialmente, os periódicos eletrônicos e quase dois terços desses consideravam importante que as bibliotecas universitárias substituíssem as assinaturas impressas por aquelas eletrônicas, tendo em conta a disponibilidade da informação, a facilidade de uso e a qualidade dos conteúdos.

Não há dúvidas de que a utilidade e o valor da informação disponibilizada pelas revistas científicas são elevados para quaisquer padrões de uso. Assim sendo, é categórico que a passagem da informação do periódico em papel para o modelo virtual mantenha ou aumente os atributos de comunicação, continuando a servir a todos os padrões de uso e busca e conduzindo a resultados sempre positivos à comunidade científica.<sup>(8)</sup>

De acordo com Sabbatini,<sup>(8)</sup> a usabilidade dos recursos eletrônicos tem produzido uma mudança importante e majoritária na manipulação e gestão da informação científica, por parte dos interessados. Tem sido demonstrado que o acesso à rede para recuperação dessa informação tem assumido um caráter de grande relevância. O acesso a partir da mesa de trabalho, a atualidade da informação, a facilidade de se capturarem os artigos e os métodos avançados de localização, além de produzirem grande aceitação à modalidade *online*, têm determinado, ao mesmo tempo, uma enorme resistência em relação ao formato impresso. Essa tendência pode ser confirmada, inequivocadamente, quando se toma como base o caso das revistas publicadas em países da América Latina e indexadas na base de dados LILACS, cuja porcentagem de publicações eletrônicas passou de 18% para 78%.<sup>(3)</sup>

A publicação eletrônica surge também, modernamente, como uma promessa de diminuição dos custos em relação ao acesso à informação, pois grande parte dos periódicos eletrônicos já disponibiliza seus conteúdos de forma completa e gratuita na Internet, para os leitores. A adoção de periódicos eletrônicos contribui, igualmente, para os editores, com a redução dos custos de publicação e distribuição, quando se compara com a modalidade impressa.<sup>(9)</sup>

Considerando o exposto, a *Revista Brasileira de Análises Clínicas* (RBAC) pega também carona com a tecnologia e entra na era digital, com sua versão *online*. Com esse novo veículo, esperamos aumentar a visibilidade da RBAC, permitindo que os sócios da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC) e os interessados nas análises clínicas, em todo o país, possam usufruir dos conteúdos publicados na revista. Na versão *online*, a RBAC passa a ser também acessível em diversos países do mundo, permitido que outras culturas tomem conhecimento sobre o que se produz, em termos de ciência, na área das análises clínicas, no Brasil.

Segundo Santos,<sup>(10)</sup> o conhecimento científico é um bem público e, portanto, deve estar disponível a todos, sem restrição, em qualquer tempo e lugar. Como uma revista *online* aberta, o acesso à RBAC será democratizado. Isso, além de

torná-la conhecida, amplamente, pois um maior número de pessoas poderá ler e acessar, de forma instantânea e simultânea, os artigos, aumentará, consideravelmente, sua esfera de influência. Assim, esperamos que os artigos publicados na RBAC tenham maior impacto e sejam citados com mais frequência. Artigos de acesso aberto, conforme Eysenbach,<sup>(11)</sup> têm o dobro de citações, o que, sem dúvida alguma, eleva a importância das revistas.

No que concerne ao processo editorial, a RBAC em sua versão *online* trará maior celeridade em sua produção e distribuição, disseminando a informação científica de forma mais rápida, eficiente e com maior qualidade. Os custos da revista também diminuirão. De acordo com Barravieira,<sup>(12)</sup> editorações eletrônicas facilitam a ordenação, a otimização e trazem economia a todo o processo de publicação.

O objetivo da mudança para a versão *online* é claro: tornar a RBAC uma revista moderna e dinâmica, alinhada com os recursos da tecnologia de informação e da internet/web, para trazer, de fato, a democratização de seus conteúdos, velocidade de publicação, visibilidade e impacto nacional e internacional, competitividade, cooperação técnico-científica e, acima de tudo, contribuir com o desenvolvimento das análises clínicas no país, tanto científica quanto socialmente. Assim, com o presente número, damos os primeiros passos no ambiente virtual. Desejamos que todos, pesquisadores, estudantes, analistas clínicos e interessados no estudo das análises clínicas tenham uma leitura prazerosa e frutífera, agora na versão *online* da RBAC.

## REFERÊNCIAS

1. Smithsonian Institution. Sixth Annual Report of the Board of Regents of the Smithsonian Institution, to Senate and House of Representatives, showing the operations, expenditures, and condition of the Institution, during 1851, and the Proceedings of Board of Regents up to Date. Washington, 1852. Disponível em: <http://babel.hathitrust.org/cgi/pt?id=chi.16310099;view=1up;seq=1>. Acesso 03 abr. 2016.
2. Cruz AAAC, Battaglia BB, Oliveira EBPM, Gabriel MA, Ferreira RCS, Prati SC. Impacto dos periódicos eletrônicos em bibliotecas universitárias. *Ci. Inf.* 2003;32(2):47-53.
3. Castro RCF. Impacto da Internet no fluxo da comunicação científica em saúde. *Rev. Saúde Pública.* 2006;40 (N Esp):57-63.
4. King DW, Tenopir C. A publicação de revistas eletrônicas: economia da produção, distribuição e uso. *Ci. Inf.* 1998;27(2):176-82.
5. Macedo-Rouet M. Legibilidade de revistas eletrônicas de divulgação científica. *Ci. Inf.* 2003;32(3): 103-12.
6. Marcondes CH. Documentos digitais e novas formas de cooperação entre sistemas de informação em C&T. *Ci. Inf.* 2002;31(3):42-54.
7. Rogers SA. Electronic journal usage at Ohio State University. *College and Research Libraries.* 2001;13(3):177-86.
8. Sabbatini M. Qualidade da informação nas publicações científicas eletrônicas na Internet: desafios e propostas. [online]. *Education in the knowledge society (EKS).* 2, 2001. Disponível em: [http://campus.usal.es/~teoriaeducacion/rev\\_numero\\_02/n2\\_art\\_sabbatini.htm](http://campus.usal.es/~teoriaeducacion/rev_numero_02/n2_art_sabbatini.htm). Acesso em 03 abril 2016.
9. Meirelles, RF. Implementação da Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal no Sistema Eletrônico de Editoração de Revistas - SEER. VI Encontro Nacional de Ensino e Pesquisa em Informação, 2005. Disponível em: [http://www.cinform-antiores.ufba.br/vi\\_anais/docs/RodrigoMeirelles.pdf](http://www.cinform-antiores.ufba.br/vi_anais/docs/RodrigoMeirelles.pdf). Acesso em 03 abr. 2016.
10. Santos, S. SciELO - Vantagens e impacto das publicações eletrônicas em acesso aberto. SES-Oficina de Editores Científicos, 2009. Disponível em: <http://www.eventos.bvsalud.org/agendas/oficinasessp/public/documents/SantosS-160051.pdf>. Acesso em 03 abr. 2016.
11. Eysenbach G. Citation Advantage of Open Access Articles. *PLoS Biol* 4(5): e157, 2006.
12. Barravieira B. Publicação impressa versus eletrônica: vantagens e desvantagens em publicar. Conferência proferida no VIII Seminário de Pós-Graduação e V Encontro Internacional de Editores e Autores de Revistas Científicas da Área de Odontologia, 2007. Disponível em: [http://www.barraviera.med.br/download\\_de\\_arquivos/down\\_05.htm](http://www.barraviera.med.br/download_de_arquivos/down_05.htm). Acesso em 03 abr. 2016.

**Paulo Murillo Neufeld, PhD**

Editor-Chefe da Revista Brasileira de Análises Clínicas (RBAC)

# Taxa de filtração glomerular estimada em adultos: características e limitações das equações utilizadas

## Glomerular filtration rate estimated in adults: characteristics and limitations of equations used

Tereza Neuma de Souza Brito<sup>1</sup>  
Arthur Renan de Araújo Oliveira<sup>2</sup>  
Adrielly Karingy Chaves da Silva<sup>2</sup>

### Resumo

A taxa de filtração glomerular (TFG) é um indicador importante para detecção, avaliação e tratamento da doença renal crônica (DRC) e, na prática clínica, a investigação de rotina por meio de equações utiliza as concentrações de creatinina sérica e da cistatina C. O presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão da literatura, a fim de conhecer melhor as limitações e características dessas equações. Foram pesquisados artigos científicos publicados em periódicos da literatura nacional e internacional no período de 2007 a 2014. Os estudos mostraram que as equações MDRD e CKD/EPI são as equações que apresentam melhor acurácia e maior precisão, por isso são mais utilizadas atualmente, porém apresentam inúmeras limitações. Conclui-se que o uso de equações para estimativa da filtração glomerular em pacientes adultos já é uma maneira precisa e prática de avaliação da função renal. No entanto, não podem ser generalizadas para todas as populações devido às variações causadas pela associação da massa muscular com a idade, sexo e etnia.

### Palavras-chave

Taxa de Filtração Glomerular; Creatinina; Cistatina C

## INTRODUÇÃO

A taxa de filtração glomerular (TFG) é a medida da depuração de uma substância que é filtrada livremente pelos glomérulos e não sofre reabsorção ou secreção tubular, por isso é comumente usada como a medida padrão da avaliação da função renal. É um indicador importante para detecção, avaliação e tratamento da doença renal crônica (DRC) e, na prática clínica, a investigação de rotina ocorre através da determinação das concentrações de creatinina sérica, urinária e da cistatina C. Um marcador ideal para medir a TFG deve ter uma taxa de produção constante, ser livremente filtrada, não ser reabsorvida e nem secretada pelos túbulos renais e não ser metabolizada ou eliminada por vias extrarrenais.<sup>(1-3)</sup>

A estimativa da TFG, por meio das equações que ajustam para idade, gênero, superfície corpórea e etnia, deve ser realizada de rotina e em conjunto com a medida da albuminúria. A concentração sérica da creatinina não

deve ser utilizada como índice isolado de avaliação da função renal e existem as equações que utilizam na fórmula a creatinina sérica e a cistatina C. Dentre as equações utilizadas existem a de Cockcroft-Gault (CG), a do estudo *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD) e a *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI) para adultos e a de Schwartz para crianças. As equações para determinar a TFG estão disponíveis online em <http://www.kidney.org>. ou no site da Sociedade Brasileira de Nefrologia.<sup>(3-7)</sup>

A creatinina sérica é o marcador de diagnóstico mais comumente utilizado para a estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG) na rotina clínica. Devido às interferências e limitações pré-analíticas e analíticas importantes, a creatinina não pode ser considerada exata e, após estudos, surgiu a cistatina C, que é produzida em concentrações constantes por todas as células nucleadas e filtrada livremente no glomérulo. Portanto, a concentração sanguínea de cistatina C depende quase inteiramente da TFG e não é substancialmente afetada

Farmacêutica-Bioquímica. Doutora em Ciências da Saúde – Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN – Natal, RN, Brasil.  
Farmacêutico(a). Especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas – Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN – Natal, RN, Brasil.

Instituição: Centro de Ciências da Saúde Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN – Natal, RN, Brasil.

Artigo recebido em 11/03/2015  
Artigo aprovado em 03/02/2016

por dieta, estado nutricional, doenças inflamatórias ou malignas e nem pela massa muscular.<sup>(1,2)</sup>

A dosagem de ambos, creatinina e cistatina C, tem que ser melhorada pela harmonização dos métodos e calibradores. Como uma medida de creatinina sérica isolada tem um risco considerável para classificar erroneamente a função renal, a taxa de filtração glomerular, calculada pelas equações MDRD, Cockcroft-Gault e CKD/EPI em adultos e a equação de Schwartz em crianças, deve ser rotineiramente calculada por laboratórios e emitida juntamente com a concentração de creatinina sérica. A equação proposta para calcular taxa de filtração glomerular com base na cistatina C parece promissora e, pelo menos, equivalente às equações estabelecidas com base na creatinina. Valores de TFG calculados usando essas equações de predição são estimativas da função renal, que permitem o reconhecimento e classificação da DRC, necessárias para o encaminhamento ou ajuste de dose do medicamento ao paciente.<sup>(1,2,8)</sup>

Diante da importância das equações que estimam a TFG na avaliação da função renal do adulto, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão da literatura a fim de conhecer melhor as limitações e características dessas equações.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido através de uma revisão de literatura nacional e internacional em artigos científicos publicados em periódicos, no período de 2007 a 2014. A pesquisa dos artigos foi realizada nas seguintes bases de dados bibliográficos: PubMed - NCBI (*National Library of Medicine*), SciELO (*Scientific Electronic Library Online*), Bireme (Biblioteca Virtual em Saúde, LILACS) *Library*, pela ferramenta de busca, *software* EndNote e do Google, utilizando como descritor "taxa de filtração glomerular" e "*glomerular filtration rate*".

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A doença renal é um problema de saúde pública que acomete milhares de pessoas no Brasil e no mundo. A TFG é uma das mais importantes ferramentas na análise da função renal e um indicador do número de néfrons funcionais. Como medida fisiológica, a TFG provou ser o mais sensível e específico marcador de mudanças na função renal. Sua medida chamada depuração ou *clearance* de creatinina permite uma avaliação mais precisa da função renal, entretanto, tem suas limitações devido à dificuldade associada à coleta do material. Expressa em mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, a TFG é importante para a classificação da Doença Renal Crônica da seguinte maneira: estágio 1: ≥90; estágio 2: entre 60 a 89; estágio

3: 30 a 59; estágio 4: 15 a 29; estágio 5: <15 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> ou diálise.<sup>(3,9-12)</sup>

As concentrações de creatinina sérica são utilizadas comumente para avaliação da TFG mesmo que existam as limitações na prática clínica. De acordo com a diretriz NKF-KDOQI (*National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative*), os ensaios para determinação da concentração de creatinina foram padronizados, relatórios de laboratório alterados e novas equações para a estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG) foram desenvolvidos, a fim de substituir a medida da filtração glomerular por meio da dosagem de creatinina na urina de 24 horas. Todas essas medidas foram desenvolvidas devido aos inúmeros erros que já foram detectados, dentre eles, o uso de medicamentos que modificam as taxas de secreção tubular de creatinina, alteração na ingestão hídrica e, principalmente, a incompreensão das orientações laboratoriais para a coleta com hora marcada.<sup>(7,9,13-15)</sup>

Na prática clínica, o uso de equações para estimar a TFG elimina os erros causados pela coleta da urina durante 24 horas, pois são ajustadas para as variáveis que interferem na produção de creatinina: sexo, idade, superfície corporal e raça. Deve ser empregado preferencialmente um método de medida de creatinina sérica calibrado, ou seja, equiparado a um método de referência internacional reconhecido pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST), que deve ser checado pelo laboratório de análises clínicas quando vai adquirir o reagente.<sup>(3,6,16-19)</sup>

No entanto, as equações não podem ser generalizadas para todas as populações devido à variação causada pela associação da massa muscular com essas variáveis, idade, sexo e raça. Além disso, as equações não levam em conta outras condições clínicas, como complicações devidas à desnutrição, inflamação dentre outros problemas que comprometem a massa muscular. Essas causas de geração da creatinina levam à imprecisão na estimativa da TFG.<sup>(2)</sup>

### Medida da TFG baseada na depuração de substâncias exógenas

Segundo a literatura, a melhor avaliação da TFG é baseada na depuração de substâncias exógenas tais como a inulina, iohexol, *diethylene triamine pentaacetic acid* (<sup>99</sup>Tc-DTPA) <sup>125</sup>*I-iothalamate* and *chromium ethylenediaminetetraacetic acid* (<sup>51</sup>Cr-EDTA). A inulina é um polímero da frutose e preenche todos os critérios de um marcador ideal, mas sua medida requer infusão contínua e não é recomendada na rotina. O iohexol é um contraste radiológico e mostra alta correlação com a inulina e o <sup>51</sup>Cr-EDTA. Contudo, os contrastes podem ser nefrotóxicos e a utilização de doses baixas é relativamente segura. O *iothalamate* é um contraste radiológico que

tende a superestimar o *clearance* em relação à inulina, enquanto que o  $^{99}\text{Tc-DTPA}$  tende a subestimar o *clearance* na presença de função renal normal. Porém, essas análises não são utilizadas na rotina.<sup>(1,14,20)</sup>

## EQUAÇÕES QUE ESTIMAM A TFG BASEADAS NA CREATININA

### Equação de Cockcroft-Gault

A equação de Cockcroft-Gault [(140-idade) x peso / (72 x creatinina) x 0,85 (se mulher)], em sua publicação original, no ano de 1973, foi amplamente utilizada para estimar a depuração da creatinina sérica. Ela foi desenvolvida a partir de resultados de 249 homens caucasianos hospitalizados, com idade média de 57 anos (faixa etária de 18 a 92 anos) e com função renal normal. Não foi padronizada para uma área de superfície corporal de 1,73 m<sup>2</sup> e por isso foi criado o fator de correção 0,85 para mulheres e o seu resultado é expresso em mL/min. É uma equação que superestima a TFG, porque não considera a secreção tubular da creatinina, o aumento do peso em pessoas obesas e a sobrecarga de fluidos.<sup>(15,20,21)</sup>

A fórmula de Cockcroft-Gault considera a existência de uma relação inversa entre a idade e a excreção diária de creatinina urinária. Sabe-se que esta excreção diária de creatinina (por kg de peso corporal) diminui com a progressão da idade devido a uma redução também progressiva na massa muscular (expressa em percentual em relação ao peso corporal). Também na obesidade, em que um aumento do tecido adiposo determina uma redução na porcentagem de massa muscular relacionada ao peso corporal, ocorre uma menor excreção diária de creatinina por kg de peso corporal quando se compara com indivíduos com peso normal. Por sua vez, a fórmula de CG considera a redução na excreção de creatinina urinária relacionada à idade, mas não a relaciona com a excreção relativamente menor de creatinina em função da obesidade.<sup>(20)</sup>

Alguns autores sugerem que a estimativa da função renal por esta fórmula seja mais fidedigna do que a medida do *clearance* de creatinina devido à suscetibilidade deste último método a erros. Apesar de ser uma das equações mais utilizadas para estimar a TFG, ela não tem uma boa acurácia. Por exemplo, em um estudo com 252 pessoas que realizaram medida do *clearance* de creatinina com coleta de urina de 24 horas, verificou-se que aproximadamente 1/3 delas apresentou resultados não confiáveis por problemas relacionados com a coleta da urina ou com os dados fornecidos.<sup>(20,22,23)</sup>

Esta equação apresenta inúmeras limitações, dentre elas temos: a TFG é estimada, mas não corrigida, para a área de superfície corpórea de 1,73 m<sup>2</sup>, ao contrário de outras equações. Tal como acontece com a equação

Schwartz, também a Cockcroft-Gault foi desenvolvida utilizando um ensaio de Jaffe desatualizado para dosagem de creatinina, o qual deve ser reavaliado quando calculado com métodos de creatinina calibrados. Por fim, requer o peso corporal, o que pode não estar sempre disponível, especialmente em *software* de laboratório que fornece cálculos de rotina a partir de medições de creatinina sérica.<sup>(1,6)</sup>

### MDRD

A equação MDRD para estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG) foi originalmente desenvolvida com base nos dados do estudo *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD) em pacientes com DRC e não incluiu indivíduos saudáveis. O desenvolvimento da equação MDRD foi baseado no *clearance* de iotalamato-I<sup>125</sup>, considerado padrão ouro, portanto, ela estima a TFG (em mL/min/1,73m<sup>2</sup>) e não a depuração de creatinina. O coorte para desenvolvimento dessa equação abrangeu 88% de indivíduos brancos com DRC, não transplantados, incluindo pacientes com nefropatia diabética e média de idade de 51 anos e TFG de 40 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. Foi publicada em 1999 e posteriormente simplificada por outras equações mais comumente usadas. Ela estima a TFG usando a creatinina sérica, idade, raça e gênero a fim de observar as diferenças causadas pela massa muscular. A MDRD pode estimar melhor a função renal em pacientes idosos, mostrando uma predição confiável da TFG nessa população.<sup>(20,21,24)</sup>

Em sua versão original, a equação MDRD era calculada com as determinações de albumina e ureia nitrogenada séricas. Porém, uma fórmula do MDRD abreviada com "quatro variáveis" tem sido recomendada, devido a seu desempenho ser tão bom quanto a equação inicial. A TFG calculada com a equação do MDRD e a TFG real são muito próximas para resultados <60 mL/min/1,73m<sup>2</sup> enquanto que a TFG excede a taxa estimada por um valor pequeno quando a TFG é >60 mL/min/1,73m<sup>2</sup>.<sup>(20,25)</sup>

A precisão e a acurácia do MDRD são reduzidas quando a TFG aumenta e em diferentes grupos étnicos. Outras nacionalidades estão validando essa equação, o que tem facilitado as comparações internacionais, como, por exemplo, quando a DRC é definida apenas pela TFG <60 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, a prevalência é de 2,5% a 11,2% na população adulta da Europa, Ásia, América do Norte e Austrália. O cálculo pelo MDRD, como inclui inúmeras variáveis, são muito complexos para a rotina do laboratório e requerem um relativo conhecimento de matemática ou um programa de computação capaz de realizá-lo.<sup>(9,11)</sup>

Existem tabelas desenvolvidas, uma para mulheres e outra para homens, que permitem aos profissionais de saúde estimar a TFG com a concentração de creatinina

sérica e a idade do paciente. Essas tabelas foram baseadas na fórmula do estudo MDRD de quatro variáveis, na qual a componente etnia negra (importante para estimar a TFG na população negra dos EUA, mas não na população brasileira) foi excluída. Essas tabelas mostram os valores de TFG correspondentes a valores específicos de creatinina sérica entre 0,5-5,0 mg/dL e nas faixas etárias de 18 a 80 anos.<sup>(20)</sup>

### CKD/EPI

O grupo *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI) desenvolveu, em 2009, uma nova equação, que é uma variação da fórmula do MDRD, a partir de um estudo de coorte, que incluiu indivíduos com e sem DRC. A equação CKD-EPI usa as mesmas quatro variáveis que a equação do MDRD, mas, comparativamente, apresenta melhor desempenho e previsão de risco, além de apresentar menor viés e uma maior acurácia, principalmente nas faixas de TFG >60 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, do que o estudo MDRD para uso clínico de rotina.<sup>(20,26-28)</sup>

Essa equação foi desenvolvida e validada com conjuntos de dados de dez estudos, em um total de 8.254 participantes. Outros 16 estudos com 3.896 participantes foram utilizados para validação externa, dos quais, 72% (n= 2.810) vieram de populações de alto risco. Ao ser comparada com o MDRD, o CKD-EPI mostrou precisão semelhante no subgrupo de pacientes com TFG <60 mL/min/1,73m<sup>2</sup>. O CKD-EPI está sendo considerado, pela comunidade de nefrologia, o melhor padrão para estimar a função renal. Porém, pode superestimar TFG em pacientes que estão extremamente abaixo do peso e subestimar em pacientes obesos mórbidos e diabéticos.<sup>(26,29,30)</sup>

As fórmulas para avaliação da TFG estão disponíveis em programas para *palmtops*, computadores e *i-phones* e estão amplamente disseminadas na internet (por exemplo, em *websites* da Sociedade Brasileira de Nefrologia e da *National Kidney Foundation*). No entanto, a maioria dos profissionais que trabalham em clínicas de atenção primária à saúde ainda continua sem acesso imediato a esses equipamentos de computação e então calculam a TFG manualmente. Esse processo é demorado, pode atrasar o diagnóstico e o encaminhamento para o nefrologista, sendo também mais sujeito a erros.<sup>(20)</sup>

A equação denominada CKD/EPI usa as mesmas quatro variáveis que a equação do MDRD, mas, comparativamente, apresenta melhor desempenho e previsão de desfechos adversos. As observações de menor viés e maior acurácia e precisão da equação CKD/EPI em comparação à equação do estudo MDRD, particularmente nas faixas de TFG >60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, constituem a razão para preconizar o seu uso clínico em substituição às equações de estimativa da TFG até então utilizadas. Com base em dados da NHANES (*National Health and*

*Nutrition Examination Survey*), a TFG média estimada foi de 94,5 mL/min por 1,73 m<sup>2</sup> versus 85,0 mL/min por 1,73 m<sup>2</sup>, e da prevalência da doença renal crônica foi de 11,5% contra 13,1%, respectivamente.<sup>(28)</sup>

A equação CKD-EPI é expressa como uma equação simples:  $TFG = 141 \times \min(SCR/\kappa, 1)^\alpha \times \max(SCR/\kappa, 1) - 1,209 \times 0,993 \text{ Idade} \times 1,018 [\text{se mulher}] \times 1,159 [\text{negro}]$ . Onde SCR corresponde a creatinina sérica (mg/dL),  $\kappa$  é de 0,7 e 0,9 para mulheres e homens respectivamente,  $\alpha$  é -0,329 e -0,411 para mulheres e homens respectivamente, min indica o mínimo de SCR/ $\kappa$  ou 1, e max indica o máximo de SCR/ $\kappa$  ou 1.<sup>(26)</sup>

Os estudos originais utilizados para a equação CKD/EPI foram divididos em dois grupos: populações de alto risco, como pacientes com DRC clínica, com uma média de TFG <90 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> e populações de baixo risco, como potenciais doadores de rins, caracterizada por uma média de TFG >90 mL/min por 1,73 m<sup>2</sup>. Não é de se estranhar que a equação CKD/EPI apresente um melhor desempenho na amostra de validação externa do que a equação MDRD, feita utilizando apenas uma população de alto risco; no entanto, essa validação não isenta o problema subjacente com o desempenho de estimar a TFG em diferentes populações. Os autores da equação CKD/EPI reconheceram isso, afirmando que "uma única equação é improvável que funcione igualmente bem em todas as populações".<sup>(26)</sup>

Estudos mostram que a equação CKD/EPI é mais precisa do que as outras duas equações, que estimam a taxa de TFG de uso comum. Esta conclusão não é realmente pertinente para a prática clínica, porque os pacientes apresentam histórias clínicas, fatores de risco, testes laboratoriais e achados de exame que informam o risco para DRC. A diminuição normal da TFG com o envelhecimento não significa lesão crônica subjacente do parênquima renal em biópsia. Após o diagnóstico da DRC pode-se escolher entre a equação CKD/EPI, para monitorar a doença, porém há uma perda de precisão quando se incluem pacientes de baixo risco, ou a equação MDRD, que perde um pouco de precisão nos métodos estatísticos.<sup>(22)</sup>

### Equações que estimam a TFG baseadas na cistatina

A cistatina C é uma proteína básica não glicosilada que faz parte da superfamília de cisteínas inibidoras de proteases. Tem um baixo peso molecular de 13 kDa e é produzida apenas por todas as células nucleadas a uma velocidade estável. Foi descoberta pela primeira vez, em 1985, como um marcador endógeno promissor para avaliar a TFG. É livremente filtrada no glomérulo e, em seguida, é reabsorvida e metabolizada sem sofrer secreção no túbulo proximal.<sup>(14,20)</sup>

Consequentemente, embora a cistatina C seja filtrada pelos glomérulos, seu *clearance* urinário não pode ser medido, o que torna o estudo dos fatores que afetam seu *clearance* e geração difíceis de realizar. Além disso, há evidência preliminar de que as concentrações séricas de cistatina C são influenciadas pelo uso de corticosteroides e estão relacionadas à idade, sexo, peso, altura, tabagismo e nível de proteína C reativa, mesmo após o ajuste para a depuração da creatinina. No momento, o papel clínico para medir a concentração da cistatina C não foi elucidado, mas ainda existe a possibilidade de que ela venha a ser um marcador útil de disfunção renal precoce, como parte de programas de rastreamento. Devido ao fato de a cistatina C não depender da massa muscular, ela parece ser mais sensível do que a equação do estudo MDRD no diagnóstico precoce da DRC, principalmente na população de idosos. Além disso, a cistatina C pode ter um papel na previsão de pacientes com DRC com maior risco de complicações.<sup>(20)</sup>

A cistatina C é considerada um potencial substituto da creatinina sérica como marcador de filtração glomerular. Estudos mostraram que esse marcador é tão relacionado com a filtração glomerular quanto a creatinina sérica. Estudo em crianças, no início da insuficiência renal, mostrou que, das inúmeras equações baseadas na cistatina C para avaliar a TFG, algumas apresentaram melhor acurácia e precisão em mostrar uma diminuição da TFG que as equações baseadas na creatinina. Outras apresentam similaridade entre as equações que usam os dois analitos. Também foi observado que as concentrações séricas de creatinina e cistatina C apresentam correlação forte e estatisticamente significativa.<sup>(8,31)</sup>

## CONCLUSÃO

Conclui-se que o uso de equações desenvolvidas para o cálculo da estimativa da filtração glomerular em pacientes adultos já é uma maneira precisa e prática de avaliação da função renal. Porém, não podem ser generalizadas para todas as populações devido às variações causadas pela associação da massa muscular com a idade, sexo e etnia.

### Abstract

*The glomerular filtration rate (GFR) is an important indicator for the detection, evaluation and treatment of chronic kidney disease (CKD) and in clinical practice, routine investigation by the equations using serum creatinine and cystatin C concentrations. This study aimed to conduct a literature review in order to a better understanding about the limitations and characteristics of these equations. Thus, we based our searching on scientific articles published in periodicals of national and international literature between 2007 and 2014. These studies showed that the MDRD and CKD / EPI equations are the that have better accuracy and greater precision, and because of that, these equations are being very common nowadays, but they still*

*present several limitations. We concluded that the use of equations for estimating glomerular filtration rate in adult patients is already a practical and precise manner to achieve the best results for renal function evaluations. However, they cannot be widely accepted or generalized to all populations due to variations caused by the association of muscle mass with age, gender and ethnicity.*

### Keywords

*Glomerular filtration rate; Creatinine; Cystatin C*

## REFERÊNCIAS

1. Herget-Rosenthal S, Bökenkam PA, Hofmann W. How to estimate GFR-serum creatinine, serum cystatin C or equations? Clin Biochem. 2007 Feb;40(3-4):153-61.
2. Stevens LA, Coresh J, Schmid CH, Feldman HI, Froissart M, Kusek J, et al. Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine: a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD. Am J Kidney Dis. 2008 Mar;51(3):395-406.
3. Soares AA, Eyff TF, Campani RB, Ritter L, Camargo JL, Silveiro PS. Glomerular filtration rate measurement and prediction equations. Clin Chem Lab Med. 2009;47(9):1023-32.
4. Nichols JH, Bartholomew C, Bonzagi A, Garb JL, Jin L. Evaluation of the IRMA TRUpoint and i-STAT creatinine assays. Clin Chim Acta. 2007 Feb;377(1-2):201-5.
5. Soares AA, Cheuiche AV, Silva AS, Rostirolla MJA, Jung LP, Horta BL, et al. Low rates of automatic reporting of estimated glomerular filtration rate in Southern Brazilian laboratories. Clin Biochem. 2013 Nov;46(16-17):1709-12.
6. Diretrizes SBD. Doença renal do diabetes. 2013-2014:147-65.
7. Inker LA, Astor BC, Fox CH, Isakova T, Lash JP, Peralta CA, et al. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of CKD. Am J Kidney Dis. 2014 May;63(5):713-35
8. Hari P, Ramakrishnan L, Gupta R, Kumar R, Bagga A. Cystatin C-based glomerular filtration rate estimating equations in early chronic kidney disease. Indian Pediatr. 2014 Apr;51(4):273-7.
9. Sodré FL, Costa JCB, Lima JC. C. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. J Bras Patol Med Lab. 2007 Oct; 43(5):329-37.
10. Drion I, Joosten H, Dikkeschei LD, Groenier KH, Bilo HJ. eGFR and creatinine clearance in relation to metabolic changes in an unselected patient population. Eur J Intern Med. 2009 Nov;20(7):722-7.
11. James MT, Hemmelgarn BR, Tonelli M. Early recognition and prevention of chronic kidney disease. Lancet. 2010;375:1296-309.
12. Rule AD, Amer H, Cornell LD, Taler SJ, Cosio FG, Kremers, WK, et al. The association between age and nephrosclerosis on renal biopsy among healthy adults. Ann Intern Med. 2010 May 4; 152(9):561-7.
13. Savaj S, Shoushtarizadeh T, Abbasi MA, Razavimanesh SH, Ghods AJ. Estimation of glomerular filtration rate with creatinine-based versus cystatin C-based equations in kidney transplant recipients. Iran J Kidney Dis. 2009 Oct;3(4):234-8.
14. Choe JY, Park SH, Kim SK. Serum cystatin C is a potential endogenous marker for the estimation of renal function in male gout patients with renal impairment. J Korean Med Sci. 2010; 25(1):42-8.
15. Kirsztajn MG. Avaliação do ritmo de filtração glomerular. J Bras Patol Med Lab. 2007Aug;43(4):257-64.
16. Li H, Zhang X, Xu G, Wang X, Zhang C. Determination of reference intervals for creatinine and evaluation of creatinine-based estimating equation for Chinese patients with chronic kidney disease. Clin Chim Acta. 2009 May;403(1-2):87-91.

17. Lane BR, Demirjian S, Weight CJ, Larson BT, Poggio ED, Campbell SC. Performance of the chronic kidney disease-epidemiology study equations for estimating glomerular filtration rate before and after nephrectomy. *J Urol*. 2010 Mar;183(3):896-901.
18. Nori US, Pesavento TE, Hebert LA. Measured GFR has limited clinical utility. *Am J Kidney Dis*. 2011 Jan;57(1):180.
19. Silva MMH, Brune, MFSS. Importância do cálculo da taxa de filtração glomerular na avaliação da função renal de adultos. *Rev Bras Farm*. 2011;92(3):160-5.
20. Bastos MG, Kirsztajn GM. Doença renal crônica: importância do diagnóstico precoce, encaminhamento imediato e abordagem interdisciplinar estruturada para melhora do desfecho em pacientes ainda não submetidos à diálise. *J Bras Nefrol*. 2011 Mar; 33(1):74-87.
21. Madero M, Sarnak MJ. Creatinine-based formulae for estimating glomerular filtration rate: is it time to change to chronic kidney disease epidemiology collaboration equation? *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2011 Nov;20(6):622-30.
22. Michels W, Grootendorst DC, Verduijn M, Elliott EG, Dekker FW, Krediet RT. Performance of the Cockcroft-Gault, MDRD, and new CKD/EPI formulas in relation to GRF age, and body size. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010 Jun;5(6):1003-9.
23. Robert AM, Brown JR, Sidhu MS, Ramanath VS, De Vries JT, Jayne JE, et al; Dartmouth Dynamic Registry Investigators. The evaluation of creatinine clearance, estimated glomerular filtration rate and serum creatinine in predicting contrast-induced acute kidney injury among patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Cardiovasc Revasc Med*. 2012 Jan-Feb;13(1):3-10
24. Pontes LB, Antunes YPPV, Bugano DIDG, Karnakis T, Del Giglio A, Kaliks RA. Prevalência de insuficiência renal em pacientes idosos com câncer em um centro de tratamento oncológico. *Einstein*. 2014;12(3):300-3.
25. Spruill WJ, Wade WE, Cobb HH 3rd. Comparison of estimated glomerular filtration rate with estimated creatinine clearance in the dosing of drugs requiring adjustments in elderly patients with declining renal function. *Am J Geriatr Pharmacother*. 2008 Aug; 6(3):153-60.
26. Florkowski CM, Chew-Harris JS. Methods of Estimating GFR: Different Equations Including CKD-EPI. *Clin Biochem Rev*. 2011 May;32(2):75-79.
27. Horio M, Imai E, Yasuda Y, Watanabe T, Matsuo S. Modification of the CKD epidemiology collaboration (CKD-EPI) equation for Japanese: accuracy and use for population estimates. *Am J Kidney Dis*. 2010 Jul;56(1):32-38.
28. Magacho EJ, Pereira AC, Mansur HN, Bastos MG. Nomogram for estimation of glomerular filtration rate based on the CKD-EPI formula. *J Bras Nefrol*. 2012 Jul-Sep;34(3):313-5. [Article in Portuguese].
29. Silveiro SP, Araújo GN, Ferreira MN, Souza FDS, Yamaguchi HM, Camargo EG. Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation pronouncedly underestimates glomerular filtration rate in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2011 Nov; 34(11):2353-5.
30. Tsao CK, Moshier E, Seng SM, Godbold J, Grossman S, Winston J, et al. Impact of the CKD-EPI equation for estimating renal function on eligibility for cisplatin-based chemotherapy in patients with urothelial cancer. *Clin Genitourin Cancer*. 2012 Mar;10(1):15-20.
31. Spanaus, K-S, Kollerits B, Ritz E, Hershberger M, Kronenberg F, Von Eckardstein A. Creatinina sérica, cistatina C e proteína  $\beta$ -traço no estadiamento diagnóstico e na predição da progressão da doença renal crônica não diabética. *J Bras Patol Med Lab*. 2011 Feb;47(1):13-23.

---

Correspondência

**Tereza Neuma de Souza Brito**

*Rua Gal Gustavo Cordeiro de Farias S/N – Petrópolis  
Natal, RN, Brasil*

# Fatores de risco e principais alterações citopatológicas do câncer bucal: uma revisão de literatura

## *Risk factors and major cytopathological changes of oral cancer: a review of literature*

Rivelilson Mendes de Freitas<sup>1</sup>

Aldenora Maria Ximenes Rodrigues<sup>2</sup>

Anselmo Ferreira de Matos Júnior<sup>3</sup>

Guilherme Antônio Lopes de Oliveira<sup>4</sup>

### Resumo

A incidência de câncer tem aumentado significativamente em todo mundo, sendo um dos mais importantes problemas de saúde pública. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão bibliográfica sobre os fatores de risco, efeitos do tabagismo e etilismo na mucosa bucal e principais alterações citopatológicas observadas no câncer bucal. Realizou-se uma revisão sistemática através da base de dados MEDLINE e LILACS no ano de 2012, usando-se as palavras-chave: *Oral cancer, oral Cytopathology, Alcoholism, Smoking*. Foram selecionados artigos publicados entre 1986 a 2006. O câncer bucal tem aumentado de forma significativa, estando entre os dez cânceres mais frequentes, apresentando a maior taxa de mortalidade no segmento cabeça e pescoço, mas apresenta também um grande índice de sobrevida em relação a outros tipos da doença, se detectado precocemente. Os fatores que estão ligados ao surgimento e desenvolvimento dessa patologia são inúmeros e, em relação à neoplasia bucal, diversos são os carcinógenos que desencadeiam uma cascata de eventos resultando neste tipo de câncer. A literatura estudada evidencia a estreita correlação entre os casos de câncer bucal e fatores considerados de risco, como o tabagismo e o alcoolismo, usados isoladamente, e, ainda, mais acentuados, se ambos os fatores estiverem associados entre si.

### Palavras-chave

Neoplasias bucais; Alcoolismo; Tabagismo; Patologia bucal

## INTRODUÇÃO

O número de casos de câncer tem aumentado de maneira significativa em todo o mundo, principalmente a partir do século passado, configurando-se atualmente em um dos mais importantes problemas de saúde pública mundial.<sup>(1)</sup> Consequentemente, a incidência de câncer de boca também tem aumentado de forma significativa, sendo o sexto tumor mais comum em todo o mundo. Nos EUA, cerca de 40 mil casos são diagnosticados a cada ano.<sup>(2)</sup>

De todos os tumores malignos que afetam a região oral, 94% destes correspondem ao carcinoma de células escamosas oral (CCEO).<sup>(3)</sup> O CCEO é uma neoplasia epitelial maligna agressiva, que acomete principalmente o sexo masculino na faixa etária dos 50 aos 80 anos. Entretanto, a incidência de casos entre as mulheres encontra-se semelhante à dos homens, provavelmente devido ao aumento da exposição a agentes carcinogênicos.<sup>(4)</sup>

De etiologia desconhecida, vários fatores parecem estar envolvidos nessa patologia, tanto extrínsecos quanto intrínsecos, sendo que os fatores extrínsecos incluem: o fumo de tabaco, tabaco sem fumaça, masca de bétel, álcool, exposição aos fenóis, infecções por *Candida* sp. e por vírus oncogênicos, bem como sífilis.<sup>(5)</sup> Como fatores intrínsecos enquadram-se os estados sistêmicos ou generalizados como desnutrição, anemia por deficiência de ferro, deficiência de vitamina A e suscetibilidade genética.<sup>(3)</sup>

Há unanimidade na literatura científica em relação à língua ser a localização preferencial para o desenvolvimento de CCEO, seguida pelo assoalho da boca.<sup>(6)</sup> No entanto, não há consenso em relação à frequência dos outros sítios anatômicos. A citopatologia é um método que se fundamenta na possibilidade de analisar as células coletadas das lesões e interpretar, à microscopia de campo claro, o esfregaço corado obtido a partir do material coletado. Em lesões orais, as células são obtidas

<sup>1</sup>Doutor em Farmacologia – Universidade Federal do Ceará – UFC(Adjunto) – Fortaleza, CE, Brasil.

<sup>2</sup>Mestranda em Ciências Farmacêuticas – Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental da Universidade Federal do Piauí – UFPI – Picos, PI, Brasil.

<sup>3</sup>Discente do Curso de Pós-graduação em Citologia Clínica da Faculdade Ateneu – Fortaleza, CE, Brasil.

<sup>4</sup>Doutorando em Biotecnologia – Renorbio – Universidade Federal do Piauí – UFPI – Picos, PI, Brasil.

Instituição: Universidade Federal do Piauí – UFPI – Picos, PI, Brasil.

Artigo recebido em 10/01/2013

Artigo aprovado em 29/01/2016

pela raspagem na superfície da lesão suspeita, possibilitando a análise das características citopatológicas e a classificação da lesão. Essa técnica é bem aceita pelos pacientes, aspecto esse que pode ser bastante útil para o diagnóstico.<sup>(7)</sup>

Entre as muitas vantagens, a citopatologia se destaca por ser rápida, de custo baixo, não invasiva, uma vez que o material é facilmente coletado por não necessitar de anestesia infiltrativa, sendo o incômodo eliminado com a utilização de anestésico tópico; o método também apresenta alta especificidade e sensibilidade, o que viabiliza a sua utilização como exame de rotina; minimiza a possibilidade de infecção e hemorragia em pacientes imunossuprimidos, permitindo a aplicação de novas técnicas quantitativas, citomorfológicas, de imunocitoquímica e de biologia molecular, proporcionando maior precisão no diagnóstico. Outro aspecto interessante é a identificação de células anormais, utilizando-se programas especializados de computador que podem agilizar a análise dos esfregaços, o diagnóstico do patologista e o tratamento.<sup>(8)</sup>

Portanto, partindo desses pressupostos, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão bibliográfica sobre os fatores de risco, os efeitos do tabagismo e do etilismo na mucosa bucal e as principais alterações citopatológicas observadas no câncer bucal.

## MATERIAL E MÉTODOS

Neste contexto fez-se uma revisão bibliográfica sistemática sobre as principais alterações citopatológicas da mucosa bucal exposta a carcinógenos. Descreveram-se a epidemiologia do câncer bucal, seus fatores de risco e os efeitos do etilismo, do tabagismo e da associação no desenvolvimento deste, bem como os resultados da citopatologia desta neoplasia. Realizou-se uma revisão sistemática por meio do MEDLINE e LILACS no ano de 2012, usando-se as seguintes palavras-chave: *Oral cancer, oral Cytopathology, Alcoholism, Smoking*. Foram selecionados artigos publicados entre os anos de 1986 a 2006. Todos os artigos encontrados, preferencialmente artigos de revisão, revisões sistemáticas e ensaios clínicos foram utilizados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### CÂNCER BUCAL

O câncer é responsável por mais de 12% de todas as causas de óbito no mundo, mais de 7 milhões de pessoas morrem anualmente dessa patologia. Com o aumento da expectativa de vida, a incidência de câncer, que em 2002 foi de 11 milhões de casos, alcançará,

segundo a *International Union Against Cancer (UICC)*, mais de 15 milhões em 2020.

A explicação para esse crescimento está na maior exposição dos indivíduos a fatores cancerígenos. A redefinição dos padrões de vida, a partir da uniformização das condições de trabalho, nutrição e consumo, desencadeada pelo processo global de industrialização, tem reflexos importantes no perfil epidemiológico das populações. As alterações demográficas, com redução das taxas de mortalidade e natalidade, indicam o prolongamento da expectativa de vida e o envelhecimento populacional, levando ao aumento da incidência de doenças crônico-degenerativas, especialmente as patologias cardiovasculares e as neoplasias.

As neoplasias constituem, assim, um problema de saúde pública para os países desenvolvidos e em desenvolvimento. A carcinogênese é um processo que envolve as etapas de iniciação, promoção e progressão tumoral. A iniciação tumoral está relacionada com danos ao DNA, resultante de mutações causadas por carcinógenos. As células iniciadas podem sofrer ação de agentes promotores, que estimulam sua proliferação, podendo induzir o desenvolvimento do câncer. O processo que desencadeia o desenvolvimento das neoplasias é consequência de um acúmulo de mutações nos genes que regulam o crescimento, a diferenciação e a morte celular.<sup>(9)</sup>

O Brasil é o terceiro país no mundo com maior índice de câncer de boca. Este tipo de câncer é uma doença pouco conhecida em relação aos outros tipos de neoplasias, tendo geralmente seu diagnóstico tardio.<sup>(10)</sup> Estudos realizados em diferentes países concordam no que diz respeito à epidemiologia do câncer de boca. A doença é mais comum em homens na faixa etária acima dos 40 anos. Os sítios anatômicos de maior prevalência são o lábio inferior, a borda da língua e o assoalho bucal. Contudo, evidências recentes mostram um aumento do número de casos em indivíduos mais jovens na faixa etária abaixo dos 40 anos.<sup>(11)</sup>

Segundo a literatura, 90% a 95% dos casos de câncer bucal correspondem ao carcinoma epidermoide ou carcinoma espinocelular, sendo as lesões classificadas em ulceradas, nodulares ou vegetantes. Pode se apresentar em formato de úlcera que não cicatriza, assintomático, podendo ser observado no lábio, língua, glândulas salivares, gengiva, assoalho de boca, mucosa da bochecha, vestíbulo da boca, palato e úvula. No estágio inicial, pode se apresentar como manchas esbranquiçadas ou avermelhadas e ulcerações superficiais assintomáticas. Em seu estágio avançado, as úlceras se apresentam maiores, dolorosas, com odor fétido. A neoplasia pode infiltrar nas estruturas subjacentes e os pacientes geralmente apresentam emagrecimento acentuado, dificuldade para falar, mastigar e deglutir.<sup>(12)</sup>

### Fatores de risco do câncer bucal

A mucosa bucal é bastante vulnerável a uma série de lesões induzidas por agentes físicos, químicos e biológicos. Outros fatores de risco para o aparecimento do câncer bucal podem ser herdados ou adquiridos, dentre eles podem ser citados a radiação solar, vírus, fungos, ausência de higiene bucal, má alimentação, tabagismo, etilismo, dieta rica em gorduras, ferro e/ou pobre em proteínas e vitaminas (A, E, C, e B<sub>2</sub>).<sup>(11)</sup>

Vários trabalhos relatam que o câncer bucal é mais prevalente em homens, apesar deste quadro estar sendo alterado pelo aumento do número de mulheres tabagistas e etilistas. Sessenta por cento dos pacientes com câncer bucal apresentam os estágios III e IV da doença, correspondendo ao tratamento não curativo.<sup>(10)</sup>

Embora a etiologia do câncer bucal esteja relacionada a múltiplos fatores, estudos revelam que o álcool e o fumo são fatores etiológicos potenciais para o surgimento do câncer de boca mesmo em indivíduos com idade inferior a 45 anos.<sup>(11,13)</sup>

### Tabagismo e o câncer bucal

Como fatores ambientais predisponentes ao câncer bucal, segundo os trabalhos pesquisados, o tabagismo constitui o fator primordial (90%), sendo que os tabagistas apresentam uma probabilidade de 4 a 15 vezes maior de desenvolver a doença do que os indivíduos não tabagistas.<sup>(14)</sup>

O tabaco é extremamente agressivo, como também as substâncias cancerígenas que o compõem, aliadas à alta temperatura alcançada pelo cigarro aceso. Embora o tabaco sem fumaça (rapé e tabaco para mascar) também possa favorecer o aparecimento da doença, uma vez que os resíduos deixados entre bochecha e língua apresentam um contato mais prolongado, favorecendo desta maneira a ação das substâncias cancerígenas do tabaco sobre a mucosa bucal. No entanto, o uso de cachimbos e charutos também é considerado um importante fator de risco para o câncer bucal e de faringe.

O ato de fumar ou mascar tabaco pode causar reações oxidativas nos tecidos, que implicam na iniciação de reações que produzem radicais livres nos eventos celulares. Assim, a presença de oxigênio reativo pode causar dano às proteínas, carboidratos, lipídios e DNA. O menor dano ao DNA pode resultar em mutagênese e em alteração do ciclo celular. Vários produtos da combustão do ato de fumar tabaco são carcinogênicos, dentre os quais os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares são predominantes. Um aumento da permeabilidade da mucosa bucal facilita a passagem da N-nitrosonorcicotina, uma das nitrosaminas carcinogênicas do cigarro.<sup>(14)</sup>

Os pacientes não fumantes também podem ser acometidos por fatores etiológicos do câncer bucal, embora

seja evidente que o uso do tabaco é um grande fator de risco para o aparecimento da doença e para as lesões potencialmente malignas. O tabagismo é fator de risco independente para o desenvolvimento do câncer bucal, aumentando o risco relativo em sete a dez vezes em comparação com os não fumantes.<sup>(14)</sup> O aumento do risco de aparecimento do câncer bucal, associado ao tabagismo, tem uma relação que varia tanto com a intensidade do consumo de cigarros por dia como pela duração em longo prazo do hábito de fumar. No entanto, também é sabido que o tabagismo associado ou não ao etilismo aumenta de forma significativa o aparecimento da doença.<sup>(15)</sup>

O Instituto Nacional do Câncer<sup>(10)</sup> aponta o fumo como o principal agente causador de morte por câncer no país, sendo que o risco de óbitos por câncer de boca em fumantes é considerado trinta vezes maior que em não fumantes. A ação do fumo na mucosa bucal tem sido avaliada,<sup>(16-18)</sup> e sua relação com as alterações celulares induzidas durante a carcinogênese é resultante da queima do tabaco, que é considerado um agente iniciador.

São identificadas no tabaco e na fumaça aproximadamente 4.700 substâncias tóxicas; entre elas, sessenta apresentam ações carcinogênicas, destacando-se os hidrocarbonetos policíclicos e as nitrosaminas específicas do tabaco.

### Etilismo e o câncer bucal

Estudos apontam o etilismo como o segundo fator ambiental causador do câncer bucal (principalmente nos casos de câncer de língua e assoalho de boca), ainda que não esteja associado ao tabagismo. Reis et al.<sup>(19)</sup> demonstram que substâncias tóxicas produzidas pelo etanol interagem com o DNA, provocando erros durante a multiplicação das células, o que pode acarretar no aparecimento do câncer. Quando a divisão celular é rápida e desordenada, devido à ação destas substâncias, o núcleo celular pode perder algumas porções de DNA, expondo as células a estas substâncias que alteram o padrão de multiplicação celular e produzem lesões que podem levar ao desenvolvimento do câncer.

O consumo de álcool também eleva a atividade metabólica do fígado, tanto em humanos como em animais usados em experiências, podendo ativar substâncias carcinogênicas. Pode ainda alterar o metabolismo intracelular das células epiteliais com as quais entra em contato (efeito local). Este prejuízo da função celular pode ser agravado se existirem deficiências nutricionais. A concentração de etanol obtida em humanos pode causar irritação local, de acordo com a variedade de bebidas alcoólicas e a quantidade de etanol nelas contida, a proporção ingerida, bem como a frequência do hábito.<sup>(14)</sup>

O etanol não tem ação carcinogênica e não causa dano direto ao DNA, entretanto, o seu primeiro produto

metabólico, originado a partir da ação da enzima álcool desidrogenase (ADH), o acetaldeído, tem ação mutagênica. O acetaldeído é capaz de induzir alterações celulares, como a quebra da fita de DNA, sendo considerado um agente genotóxico.<sup>(20)</sup>

O etanol pode ter um efeito direto sobre a mucosa, alterando a homeostase das células epiteliais, alterando a estrutura da mucosa ou induzindo um aumento da permeabilidade do epitélio. Dessa forma, o etanol atua como agente facilitador para a penetração de carcinógenos, tornando os tecidos mais suscetíveis à sua ação.<sup>(20)</sup>

### **Associação etilismo/tabagismo e o câncer bucal**

O álcool e o tabaco foram apontados como os dois maiores fatores específicos para o surgimento de carcinoma epidermoide de cavidade bucal, apesar de outros fatores secundários também terem sido elencados no risco de incidência deste tipo de câncer. O álcool, assim como o fumo, também é um fator etiológico potencial para o desenvolvimento do câncer de boca.<sup>(19)</sup>

A associação entre o fumo e o álcool na etiologia do câncer de boca está relacionada com esse efeito de aumento da permeabilidade causado pelo álcool, que pode ocasionar um aumento da penetração dos carcinógenos presentes no tabaco.<sup>(21)</sup>

Devido à dificuldade em se obterem informações acuradas referentes ao hábito de ingestão de álcool, são poucos os estudos em humanos que avaliam o efeito do mesmo isoladamente nas células da mucosa bucal. Além disso, há dificuldade de se isolarem os efeitos do álcool e do tabaco, uma vez que a maioria dos tabagistas faz uso de bebidas alcoólicas.<sup>(22)</sup>

Os efeitos do álcool e do fumo sobre a mucosa bucal foram estudados por meio das células epiteliais da mesma, obtidas por raspagem e analisadas a partir da citopatologia, que consiste de um método de exame fundamentado na análise microscópica de células epiteliais.<sup>(17)</sup>

### **Citopatologia do câncer bucal**

A citopatologia, em seu início, foi utilizada no diagnóstico de lesões uterinas. Após algumas adaptações, a citopatologia pode ser aplicada ao estudo das células esfoliadas da cavidade bucal.

O epitélio bucal mantém sua homeostase pelo processo de renovação celular contínuo. As alterações nesse processo de maturação epitelial podem ser observadas através da citopatologia. Muitos estudos foram realizados para se avaliar o padrão de maturação celular de diferentes regiões da boca, chegando à conclusão que os seus sítios anatômicos apresentam diferentes graus de maturação epitelial. A citopatologia também foi utilizada para avaliação das alterações no padrão de maturação epitelial

causados por diferentes estímulos, destacando-se, entre eles, o fumo.<sup>(16,23,24)</sup>

Para a coleta em citopatologia bucal, os instrumentos devem ser de fácil utilização, não devem causar desconforto e deve-se coletar um número significativo de células epiteliais.<sup>(17)</sup> Cançado et al.<sup>(17)</sup> sugerem que a citologia em meio líquido resulte em menor quantidade de muco e restos alimentares nos esfregaços citológicos da cavidade bucal, facilitando o diagnóstico citopatológico.<sup>(25,26)</sup> A técnica consiste em transferir o material coletado para um meio líquido, que tem propriedade de preservar as estruturas morfológicas e moleculares do esfregaço. No entanto, a sua aplicação, bem como a sua validação na mucosa bucal, ainda não foram estabelecidas.

A citopatologia tem sido utilizada com o intuito de identificar alterações celulares prévias ao aparecimento de lesões clinicamente detectáveis,<sup>(16,27)</sup> para controle periódico de pacientes em exposição crônica aos carcinógenos do fumo e do álcool e como meio de rastreamento de alterações celulares em população de alto risco para o desenvolvimento deste tipo de câncer.<sup>(17,24)</sup>

### **Principais alterações citopatológicas do câncer bucal**

Mckee<sup>(28)</sup> descreveu as principais alterações celulares como degenerativas, inflamatórias, reparadoras e neoplásicas. Nas alterações celulares degenerativas ocorre um aumento no tamanho da célula, o limite nuclear fica nitidamente enrugado e o núcleo torna-se picnótico. Também pode haver a presença de cariorrexe (desintegração do núcleo) e cariólise (dissolução do núcleo). Já nas alterações inflamatórias há um aumento do núcleo (hipertrofia nuclear), marginalização da cromatina, bi ou multinucleação, presença de halo perinuclear e vascularização do citoplasma (vacúolos isolados e vacuolização em colmeia). Quando as células apresentam núcleo hipertrófico, multinucleação com nucléolos proeminentes e células em folhetos e tecido encontram-se em processo de reparo. As células neoplásicas apresentam irregularidade, hiper-cromasia e com hipertrofia nuclear conforme demonstrado na Tabela 1.

Birman e Sugaya<sup>(29)</sup> citaram as alterações celulares mais importantes observadas a partir da citopatologia do câncer bucal, dentre elas: anisocitose, vacuolização, propriedade alterada dos corantes, inclusão citoplasmática e polimorfismo. Dentre as alterações nucleares destacaram: hiper-cromatismo, hipo ou policromia, irregularidades da membrana, multinucleação, figuras mitóticas aberrantes e alterações degenerativas. Células esfoliadas de lesões ocasionadas por irritação crônica mostram um predomínio de células ceratinizadas; em contrapartida, em áreas de ulceração profunda há maior número de células imaturas.

Tabela 2 - Principais alterações celulares do câncer bucal\*

Alterações celulares	Principais características
Degenerativas	Aumento no tamanho da célula, núcleo picnótico com limite nuclear nitidamente enrugado. Pode haver a presença de cariorexe (desintegração do núcleo) e cariólise (dissolução do núcleo)
Inflamatórias	Aumento do núcleo (hipertrofia nuclear), marginalização da cromatina, bi ou multinucleação, presença de halo perinuclear e vascularização do citoplasma (vacúolos isolados e vacuolização em colmeia)
Reparadoras	Núcleo hipertrófico, multinucleação com nucléolos proeminentes e células em folhetos
Neoplásicas	Células irregulares, com hiper cromasia e hipertrofia nuclear

\*Fonte: Adaptado de McKeer, 1997

As células de lesões malignas intrabuciais apresentam as seguintes características: aumento nuclear, variação no tamanho e forma do núcleo, aumento na razão núcleo/citoplasma, nucléolos múltiplos e predominantes, hiper cromatismo, anormalidade na cromatina e distribuição discrepante na maturação das células.

Ogden et al.<sup>(22)</sup> demonstraram que a citopatologia é escassa em amostra de células da camada basal quando o epitélio bucal está intacto. Isto indica que a técnica de citologia não remove células das camadas mais profundas do epitélio, como as células de lâmina basal. Porém, a carência de células basais em esfregaços não necessariamente reflete pobreza da técnica.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Existem vários fatores de risco (tabagismo, etilismo, dieta, predisposição genética, fatores traumáticos e envolvimento viral) associados ao câncer bucal; entretanto, o tabaco e álcool etílico são os principais fatores de risco envolvidos. Devido ao alto número de tabagistas e etilistas na população brasileira, o câncer bucal é um problema de saúde pública.

A maioria dos indivíduos com câncer bucal só procura tratamento em estágios avançados, o que compromete a cura desta patologia. Assim, é de suma importância que um programa de prevenção eficiente e de baixo custo seja implantado no Sistema Único de Saúde, uma vez que aumenta a possibilidade de cura desses pacientes.

A possibilidade de se utilizar a citopatologia para avaliar os efeitos do etilismo e tabagismo em pacientes com a mucosa oral normal torna a prevenção e o tratamento desta neoplasia mais eficiente. Essa técnica melhora também a análise das amostras e a interpretação dos resultados, sendo um importante fator para a redução da incidência do câncer bucal.

## Abstract

*The incidence of cancer has increased significantly throughout the world, is today one of the most important public health problems. The objective of this study was to review the literature on risk factors, the effects of tobacco and alcohol in the oral mucosa and the major changes observed in the oral cancer. We performed a systematic review using the MEDLINE and LILACS in the year 2012 using the following key words: Oral cancer, oral Cytopathology, Alcoholism, Smoking. Articles published from 1986 to 2006. The oral cancer has increased significantly, being among the ten most common cancers and has the highest mortality rate in head and neck but also has a high rate of survival when compared to other types of disease, if detected early. The factors that are linked to the emergence and development of this disease are numerous and, in relation to oral cancer, several are the carcinogens that trigger a cascade of events that results in this type of cancer. The literature study shows the close correlation between cases of oral cancer and the risk factors such as smoking and alcohol, used alone, and even more pronounced if both factors are associated with each other.*

## Keywords

*Mouth neoplasms; Pathology, Oral; Alcoholism; Smoking*

## REFERÊNCIAS

1. World Health Organization (WHO). Policies and managerial guidelines for national cancer control programs. *Rev Panam Salud Publ.* 2002;12(5):366-70.
2. Lingen MW, Kumar V. Cabeça e Pescoço. In: Kumar V, Abbas A, Fausto N. *Patologia: bases patológicas das doenças.* Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. p. 820.
3. Neville BW. *Patologia Epitelial.* In: \_\_\_\_\_. *Patologia oral & maxilofacial.* Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2004. p. 325-54.
4. Neville BW, Day TA. Oral cancer and precancerous lesions. *CA J Clin.* 2002;52(4):195-215.
5. Silverman S, Eversole LR. Lesões pré-malignas e carcinoma de células escamosas bucais. In: Silverman S, Eversole LR, Truelove EL. *Fundamentos de medicina oral.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 185-204.
6. Carvalho MB, Lenzi J, Lehn CN, Fava AS, Amar A, Kanda JL, et al. Clinical and epidemiological characteristics of oral squamous cell carcinoma in women. *Rev Assoc Med Bras.* 2001 Jul;47(3):208-14.
7. Mehrotra R, Gupta A, Singh M, Ibrahim R. Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. *Mol Cancer.* 2006 Mar;5:11.
8. Diniz-Freitas M, García-García A, Crespo-Abelleira A, Martins-Carneiro JL, Gándara-Rey JM. Applications of exfoliative cytology in the diagnosis of oral cancer. *Med Oral.* 2004 Aug-Oct;9(4):355-61. [Article in English, Spanish].
9. Junqueira LC, Carneiro JÁ. Célula Cancerosa. In: \_\_\_\_\_. *Biologia celular e molecular.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 292-301.
10. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Falando sobre câncer da boca. [Informativo na internet]. 2003 [acesso em 22 dez 2009]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/>.
11. Zavras AI, Douglas CW, Joshipura K, Wu T, Laskaris G, Petridou E, et al. Smoking and alcohol in the etiology of oral cancer: gender-specific risk profiles in the south of Greece. *Oral Oncol.* 2001 Jan;37(1):28-35.
12. Amorim AG, Amorim RFB, Freitas RAA. Estudo epidemiológico do carcinoma epidermóide oral: análise de 85 casos. *Odontol Clín Cient.* 2012;1(1):41-5.
13. Polednak AP. Recent trends in incidence rates for selected alcohol-related cancers in the United States. *Alcohol Alcohol.* 2005 May;40(3):234-8.

14. Leite ACE, Guerra ENS, Melo NS. Fatores de risco relacionados com o desenvolvimento do câncer bucal. *Rev Clín Pesq Odontol.* 2005;1(3):31-6.
15. Danesi CC, Marconato CM, Spara L. Câncer de boca: um estudo no hospital universitário de Santa Maria. *Rev Bras Cancerol.* 2002;46(20):179-82.
16. Pinto TAS, Rados PV, Santana Filho M, Barbachan JJD. Avaliação quantitativa de núcleo/citoplasma e AgNORs em células da mucosa bucal de fumantes e não-fumantes. *Rev Fac Odontol.* 2003 Dez;44(2):17-21.
17. Cançado RP, Yurgel LS, Filho MS. Evaluation of the nucleolar organizer region associated proteins in exfoliative cytology of normal buccal mucosa. Effect of smoking. *Oral Oncol.* 2001 Jul;37(5):446-54.
18. Bohrer PL, Filho MS, Paiva RL, da Silva IL, Rados PV. Assessment of micronucleus frequency in normal oral mucosa of patients exposed to carcinogens. *Acta Cytol.* 2005 May;49(3):265-72.
19. Reis SRAA, Lima CR, Marchionni AMT, Setúbal MG. Fatores de risco do câncer da cavidade oral e da orofaringe. I. fumo, álcool e outros determinantes. *RPG Rev Pós-grad.* 1997 Abr;4(2):127-32.
20. Howie NM, Trigkas TK, Cruchley AT, Wertz PW, Squier CA, Williams DM. Short-term exposure to alcohol increases the permeability of human oral mucosa. *Oral Dis.* 2001 Nov;7(6):349-54.
21. Du X, Squier CA, Kremer MJ, Wertz PW. Penetration of N-nitrosomictine (NNN) across oral mucosa in the presence of ethanol and nicotine. *Oral Pathol Med.* 2000 Feb;29(2):80-5.
22. Ogden GR, Cowpe JG, Wight AJ. Quantitative oral exfoliative cytology; review of methods of assessment. *J. Oral Pathol Med.* 1997 May;26(5):201-5.
23. Paiva RL, Santana Filho M, Bohrer PL, Lauxen IS, Rados PV. AgNOR Quantification in Cells of Normal Oral Mucosa Exposed to Smoking and Alcohol A Cytopathologic Study. *Anal Quant Cythol Hystol.* 2004 Jun;26(3):175-80.
24. Bohrer PL. Avaliação das alterações citopatológicas da mucosa clinicamente normal exposta a carcinógenos. Rio Grande do Sul. Dissertação [Mestrado em Patologia Bucal] - Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2005.
25. Castle PG, Solomon D, Hildesheim A, Herrero R, Concepcion Bratti M, Sherman ME, et al. Stability of archived liquid-based cervical cytology specimens. *Cancer.* 2003 Apr;99(2):89-96.
26. Klinkhamer PJ, Meerding WJ, Rosier PF, Hanselaar AG. Liquid-based cervical cytology. *Cancer.* 2003 Oct;99(5):263-71.
27. Gedoz L, Pinto TAS, Ana Filho MS, Rados PV. Citopatologia esfoliativa da mucosa bucal: controle de pacientes com leucoplasias. In: Congresso Internacional de Odontologia de São Paulo. 2002, São Paulo.
28. Mckeer GT. Citopatologia. 1ª. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997.
29. Birman EG, Sugaya NN. Citologia no diagnóstico do câncer bucal. In: Kowalski LA, Dib LL, Ikeda MK, Edd C. Prevenção, diagnóstico e tratamento do câncer bucal. São Paulo: Frontis Editorial, 1999.

---

Correspondência

**Aldenora Maria Ximenes Rodrigues**  
Universidade Federal do Piauí – UFPI  
Rua Cícero Eduardo, s/n, Junco  
64600-000 – Picos, PI, Brasil

## Aspectos da aplicabilidade da análise da curva de *melting*

### *Applicability aspects of the melting curve analysis*

Paulo Roberto Xavier Tomaz<sup>1</sup>

Juliana da Rocha dos Santos<sup>2</sup>

Paulo Caleb Júnior de Lima Santos<sup>3</sup>

#### Resumo

As técnicas de biologia molecular possibilitaram o avanço no diagnóstico de inúmeras doenças monogênicas, o melhor entendimento sobre predisposição às doenças poligênicas e a descoberta de marcadores genéticos de sensibilidade e de resistência a alguns fármacos. Nesta revisão, os principais objetivos foram abordar as características da metodologia da análise da curva de *melting* (HRM – *high resolution melting*) e sua aplicabilidade na identificação de alterações genéticas. Ainda, foram relacionados alguns pontos técnicos que devem ser observados para que os ensaios de HRM sejam bem sucedidos e também vantagens e desvantagens desta metodologia, dependendo de aspectos interlaboratoriais, tais como: demanda, número de testes genéticos realizáveis, custos (manutenção dos equipamentos, tempo de consumo e estoque de segurança de reagentes específicos) e especificidade ou sensibilidade requerida no ensaio.

#### Palavras-chave

Diagnóstico; Fenótipo; Testes laboratoriais

## INTRODUÇÃO

As técnicas de biologia molecular possibilitaram o avanço no diagnóstico de inúmeras doenças monogênicas, o melhor entendimento sobre predisposição às doenças poligênicas e a descoberta de marcadores genéticos de sensibilidade e de resistência a alguns fármacos.

Nesta revisão, os principais objetivos foram abordar as características da metodologia da análise da curva de *melting* (HRM – *high resolution melting*) e sua aplicabilidade na identificação de alterações genéticas, além de abordar as vantagens e as desvantagens da técnica.

## VARIAÇÃO GENÉTICA

O genoma humano é composto por aproximadamente 3 bilhões de pares de base e 30 mil genes. Os seres humanos apresentam um alto grau de variabilidade genética e isso pode ser observado em fenótipos bem conhecidos como altura, pressão sanguínea e cor da pele. A variação na sequência de DNA pode ocorrer por diversas formas: substituição de nucleotídeos únicos (SNPs – *single nucleotide polymorphisms*), inserção ou deleção

única ou múltipla, alterações no número de repetição de sequências e mudanças maiores na estrutura do cromossomo.<sup>(1,2)</sup>

Toda variação genética é originada a partir do processo conhecido como mutação, definido como uma mudança na sequência referência do DNA. As mutações podem afetar tanto as células da linhagem germinativa – que podem ser transmitidas de uma geração a outra, quanto as células da linhagem somática – que são envolvidas no desenvolvimento de vários tipos de cânceres. Os alelos variantes encontrados em mais de 1% dos cromossomos na população geral são conhecidos como polimorfismos genéticos. Em contraste, os alelos com frequência menor que 1% são, por convenção, chamados de variantes raras ou mutações.<sup>(3)</sup>

## POLIMORFISMO E MUTAÇÃO

Os polimorfismos genéticos são responsáveis pela diferença em fenótipos gerais dos indivíduos; no entanto, alguns polimorfismos podem estar associados à predisposição de doenças complexas, também chamadas de doenças poligênicas. Em outras palavras, um polimorfismo não é o suficiente para causar estas doenças, mas

<sup>1</sup>Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular, Instituto do Coração (InCor), Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

<sup>2</sup>Farmacêutica. Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular, Instituto do Coração (InCor), Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

<sup>3</sup>PhD/FCF-USP. Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular, Instituto do Coração, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

o conjunto de múltiplas alterações e a interação delas com o meio ambiente podem levar a maior ou menor suscetibilidade ao desenvolvimento de doenças como diabetes *mellitus*, hipertensão, doenças coronarianas, distúrbios psiquiátricos e neurodegenerativos.

Os polimorfismos também são associados à farmacogenética, ciência que estuda a influência de variações genéticas na eficácia medicamentosa e na presença de efeitos adversos. Estes polimorfismos geralmente são localizados em genes codificadores de enzimas metabolizadoras, de receptores e de transportadores de membrana.<sup>(4,5)</sup>

Já as variações chamadas de mutações podem indicar um conceito patogênico e geralmente estão associadas aos distúrbios monogênicos, tais como: distrofia miotônica, neurofibromatose, doença de Huntington, síndrome Marfan, fibrose cística, diversas cardiomiopatias, anemia falciforme, fenilcetonúria, hemofilia, etc.

### ANÁLISE DA CURVA DE MELTING – HRM (HIGH RESOLUTION MELTING)

#### Fundamento

A técnica de HRM exige a utilização dos reagentes de uma PCR (*polymerase chain reaction* – reação em cadeia da polimerase) convencional com a adição de um corante que emite fluorescência ao se intercalar na dupla fita de DNA (fluoróforo). Após a realização da PCR e da amplificação do fragmento específico, termociclando geralmente de trinta a quarenta ciclos, há o maior grau de fluorescência devido ao maior número de DNA de fita dupla.

Assim, o aparelho de PCR com leitura em tempo real executa a análise de HRM propriamente dita, isto é, aumenta a temperatura no tubo de reação, gradativamente (aproximadamente de 70°-90°C), a fim de dissociar a dupla fita de DNA e gerar uma curva de decaimento da fluorescência. Assim, ocorre a diminuição da fluorescência (Figura 1) que é captada pelo leitor do aparelho, gerando padrões de curvas (curvas de *melting*) de acordo com os diferentes genótipos (Figura 2).<sup>(6,7)</sup>

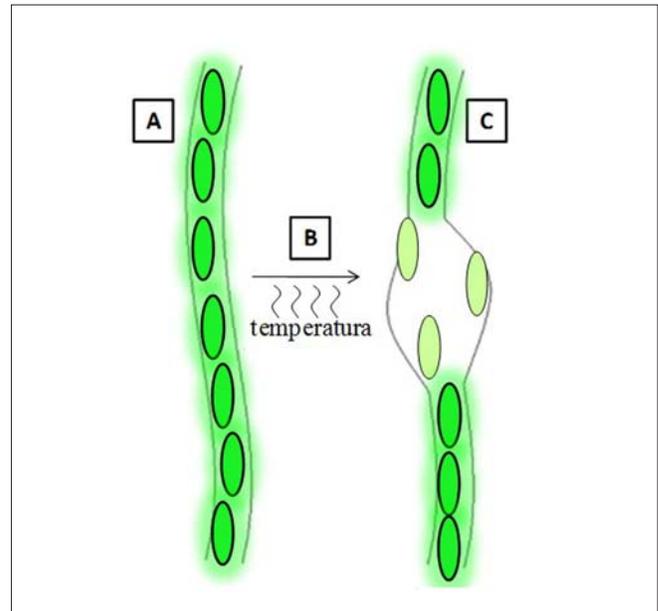


Figura 1. Atividade do agente fluorescente. A: saturação do corante na dupla fita de DNA. B: gradativo da temperatura. C: início da desnaturação e diminuição da fluorescência.

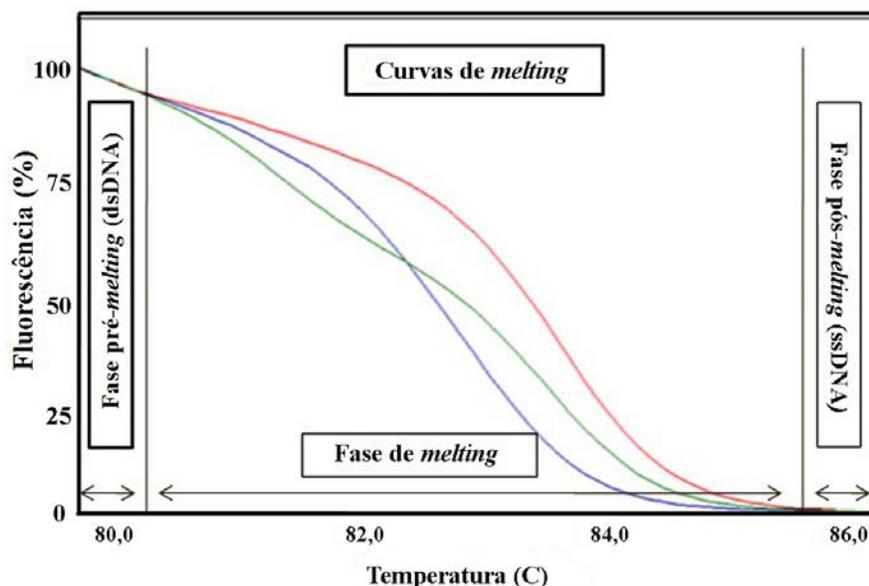


Figura 2. Comportamento de dissociação da dupla fita de DNA em uma análise por HRM (high resolution melting). Na fase de melting são geradas curvas de acordo com os genótipos das amostras. dsDNA = DNA dupla fita; ssDNA = fita simples

Para a realização da PCR-HRM são necessários os seguintes reagentes: diluente (água ultrapura autoclavada), tampão para a PCR, dNTPs (desoxirribonucleo-tídeos trifosfatados), iniciadores (*forward primer* e *reverse primer*), Taq DNA polimerase, DNA genômico e reagente fluorescente em DNA dupla fita. Os corantes intercalantes de terceira geração, como o SYTO®9 (Invitrogen Corp, Carlsbad, CA), LCGreen® (Idaho Technologies, Salt Lake City, UT) e Eva Green® (Biotium Inc, Hayward, CA), por apresentarem menor toxicidade que os corantes de primeira e de segunda gerações, podem ser utilizados em concentrações mais elevadas a fim de saturar o DNA dupla fita, aumentando assim a resolução da análise de *melting*. A reação pode ser realizada manualmente ou através de instrumento automatizado – usando tubos de reação, placas ou discos – de acordo com o equipamento ou número de amostras analisadas.

### Aplicações

A técnica pode ser utilizada para diversas finalidades que se embasam na análise qualitativa (análise de alterações genéticas, mapeamento do DNA, determinação da taxa de mutações somáticas adquiridas, tipagem HLA) ou na análise quantitativa, como exemplos: a análise de metilação do DNA e a quantificação de carga viral. Assim, usada em áreas de pesquisas científicas como estudos de associação, determinação da prevalência do alelo dentro de uma população ou subgrupos, rastreamento de mutações e identificação de espécies.<sup>(7)</sup>

Diversos exames genéticos disponíveis em laboratórios clínicos podem ser realizados pela técnica de HRM na pesquisa de mutações associadas às doenças monogênicas, na análise de polimorfismos relacionados à predisposição para doenças complexas, na identificação de marcadores farmacogenéticos diversos e na análise quantitativa e tipagem de vírus. Como exemplos: mutações no gene *KRAS*, pesquisa da mutação V617F no gene *JAK2*, mutações da hemocromatose hereditária, polimorfismos associados à trombofilia (nos genes fator V de Leiden, protrombina e *MTHFR*), dentre outros.

No entanto, alguns pontos técnicos, relacionados no Quadro 1, devem ser observados para que os ensaios da análise da curva de *melting* sejam bem sucedidos. Existem também vantagens e desvantagens desta metodologia que podem viabilizar ou não sua utilização (Quadro 2), dependendo de aspectos interlaboratoriais, tais como: demanda, número de testes genéticos realizáveis, custos (manutenção dos equipamentos, tempo de consumo e estoque de segurança de reagentes específicos) e especificidade ou sensibilidade requerida no ensaio.

#### Quadro 1 - Observações técnicas para a análise da curva de *melting* bem sucedida

Para a discriminação alélica, é ideal analisar fragmentos pequenos (não superiores a 120 pb). Fragmentos menores possuem melhor diferenciação entre os genótipos, produtos maiores podem ser analisados com sucesso, no entanto, apresentam menor resolução.

Todas as amostras devem ser de igual volume e conter a mesma concentração de reagentes, pois o comportamento de fusão do DNA pode ser afetado.

Os tubos das reações devem ser idênticos, evitando assim variações devido à espessura do plástico e propriedades de mensuração da fluorescência.

Partir de concentração iguais de DNA e garantir que todas as reações tenham, amplificado de forma semelhante.

Parcelas de ampliações anormais com sinais de fluorescência baixos podem gerar dados inconclusivos ou errôneos.

#### Quadro 2 - Vantagens e desvantagens da análise da curva de *melting*

##### Vantagens:

É um método simples e robusto

Apresenta rapidez na execução das análises.

Aplicável à ampla gama de ensaios genômicos e detecção de alterações genéticas para fins de pesquisa e de diagnósticos clínicos.

Não é necessária a utilização de eletroforese e de reagentes mutagênicos para a visualização dos fragmentos.

Elimina a necessidade da utilização de sondas de *primers*.

Reduz a possibilidade de contaminação, devido ao simples processo de preparação das amostras ou a automação aplicada.

Não requer nenhum processamento de pós-PCR.

##### Desvantagens:

Devido à preferência pela utilização de fragmentos pequenos, estes conduzem a uma flexibilidade reduzida na síntese dos *primers*.

Outras variantes genéticas presentes no fragmento amplificado podem conduzir a erros de interpretação, pois pode alterar o padrão de curva da mutação em análise.

Alterações genéticas classes 3 e 4 (trocas G/C e A/T) podem ser mais difíceis de diferenciar

Referências: Lin et al. (2011); Santos (2011); Gundry et al. (2008); Liew et al. (2004); Wiechec et al. (2011; White;Potts (2006)

### Análise de polimorfismos

Segundo Gundry et al.<sup>(8)</sup> e Liew et al.,<sup>(9)</sup> as quatro classes das alterações de bases nucleotídicas podem ser identificadas pela análise de HRM. Os genótipos para os polimorfismos das classes 1 (trocas C/T e G/A) e 2 (trocas C/A e G/T), que representam aproximadamente 84% dos SNPs do genoma humano, são facilmente discriminados. Como exemplos, as Figuras 3 e 4 demonstram gráficos de genotipagem de SNPs das classes 1 e 2.

No entanto, a diferenciação dos genótipos para os polimorfismos das classes 3 (C/G) e 4 (T/A) é mais difícil

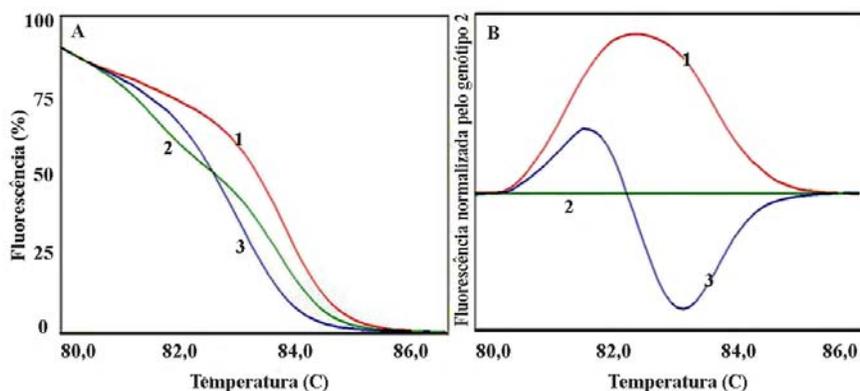


Figura 3. Gráficos da análise de melting de polimorfismo de classe 1 (troca C/T; DRD 2 rs 1800497). Alterações nucleotídicas resultam em diferentes padrões de curva na análise da curva de melting. A: Gráfico de fluorescência por temperatura. B: Gráfico de fluorescência normalizada (baseado genótipo 2) por temperatura. 1: genótipo selvagem (CC); 2: genótipo heterozigoto (CT); 3: genótipo homozigoto (TT).

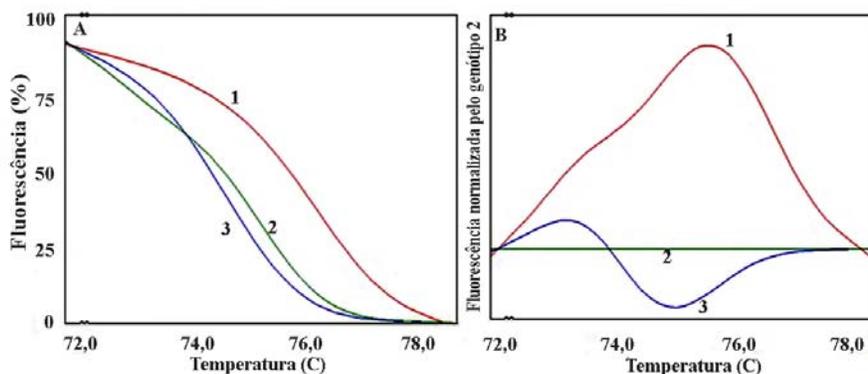


Figura 4. Gráficos da análise de melting de polimorfismo de classe 2 (troca C/A; HMGCR rs3846662). Alterações nucleotídicas resultam em diferentes padrões de curva na análise da curva de melting. A: Gráfico de fluorescência por temperatura; B: Gráfico de fluorescência normalizada (baseado genótipo 2) por temperatura. 1. genótipo selvagem (CC); 2: genótipo heterozigoto (CA); 3. genótipo homozigoto (AA).

peelo fato de as temperaturas para a fusão da fita de DNA dos homozigotos possuírem pequena variação ( $<0,4^{\circ}\text{C}$ ), gerando curvas de *melting* com decaimentos semelhantes.<sup>(8,9)</sup>

Para possibilitar ou melhorar a genotipagem de SNPs de classes 3 e 4, pode-se usar o artifício da adição do genótipo selvagem em amostras desconhecidas. Santos et al.<sup>(10)</sup> reportaram que os genótipos homozigotos para a troca C>G foram facilmente distinguidos com a abordagem. Pode-se observar na Figura 5, primeiramente sem a adição, que os padrões de curvas de *melting* dos genótipos selvagem (CC) e homozigoto mutado (GG) são muito semelhantes e a curva gerada pelo genótipo heterozigoto (CG) possui um padrão diferenciado.

Já com a adição do genótipo selvagem (CC) nas amostras, as curvas geradas pelos genótipos selvagem e heterozigoto permanecem com a mesma característica; no entanto, a curva gerada pelo genótipo homozigoto mutado (GG) assume o padrão do genótipo heterozigoto, podendo assim, distinguir os três genótipos (Figura 5).<sup>(10)</sup>

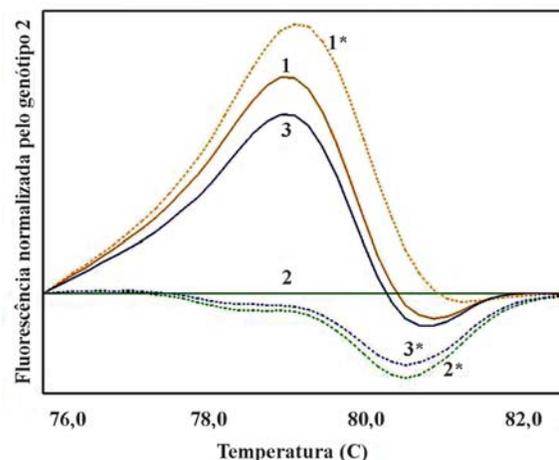


Figura 5. Gráficos da análise de melting de polimorfismo de classe 4 (troca C/G; HFE rs). \* Adição do genótipo selvagem (CC): 1: genótipo selvagem (CC); 2: genótipo heterozigoto (CG); 3: Genótipo homozigoto (GG). Padrões de curvas para os genótipos selvagem e heterozigoto são diferentes e permanecem com a mesma característica, após a adição, a curva do genótipo homozigoto mutado apresenta curva semelhante ao genótipo selvagem. Após a adição, a curva do genótipo homozigoto apresenta similaridade à curva do genótipo heterozigoto.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A literatura internacional traz diversos testes moleculares realizados pela análise da curva de *melting* (HRM). Além disso, indicam inúmeras vantagens, principalmente: simples, rápida e de baixo custo. No entanto, a viabilidade dependerá de aspectos interlaboratoriais, tais como: demanda, número de testes genéticos realizáveis e custos de manutenção e de reagentes específicos.

### Abstract

*Molecular biology techniques allowed progress in diagnosis of numerous monogenic diseases, a better understanding on predisposition to polygenic disease and the discovery of genetic markers of sensitivity and resistance to some drugs. In this review, the main aims were to address the characteristics of the methodology of melting curve analysis (HRM – high resolution melting) and its applicability in identifying genetic variation. Also, some technical aspects and advantages and disadvantages of this methodology, depending on interlaboratory aspects such as demand, number of genetic tests, costs (maintenance of equipment, consumption time and safety stock of specific reagents) or required sensitivity and specificity.*

### Keywords

*Diagnosis; Laboratory test; Phenotype*

11. Lin JT, Hsiao KJ, Chen CY, et al. High resolution melting analysis for the detection of SLC25A13 gene mutations in Taiwan. *Clin Chim Acta.* 2011 Feb;412(5-6):460-5.
12. Wiechec E, Wiuf C, Overgaard J, et al. High-resolution melting analysis for mutation screening of RGS1, RGS16, and RGS8 in breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011 Feb;20(2):397-407.

Correspondência

**Paulo Caleb Júnior de Lima Santos**

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44 – Cerqueira César  
São Paulo, SP, Brasil

## REFERÊNCIAS

1. Balasubramanian SP, Cox A, Brown NJ, Reed MW. Candidate gene polymorphisms in solid cancers. *Eur J Surg Oncol.* 2004 Aug;30(6):593-601.
2. Jorde LB, Carey JC, Bamshad MJ, White RL. *Genética médica.* 3a ed. Editora Elsevier, 2004. p. 33-54.
3. Nussbaum RL, Mcinnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson *Genética Médica.* 6a ed. Editora Guanabara Koogan, 2002. p. 76-82.
4. Turnpenny PD, Ellard S. *Emery genética médica.* 13 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.
5. Santos PC, Dinardo CL, Schettert IT, Soares RA, Kawabata-Yoshihara L, Bensenor IM, et al. CYP2C9 and VKORC1 polymorphisms influence warfarin dose variability in patients on long-term anticoagulation. *Eur J Clin Pharmacol.* 2013 Apr;69(4):789-97.
6. White H, Potts G. Mutation scanning by high resolution melt analysis: Evaluation of Rotor-Gene 6000 (Corbett Life Science), HR-1 and 384 well LightScanner (Idaho Technology). National Genetics Reference Laboratory (Wessex, 2006).
7. Corbett. High resolution melt assay design and analysis: Rotor gene 6000. *CorProtocol*, 2006. p. 1-24.
8. Gundry CN, Dobrowolski SF, Martin YR, Robbins TC, Nay LM, Boyd N, et al. Base-pair neutral homozygotes can be discriminated by calibrated high-resolution melting of small amplicons. *Nucleic Acids Res.* 2008 Jun;36(10):3401-8.
9. Liew M, Pryor R, Palais R, Meadows C, Erali M, Lyon E, et al. Genotyping of single-nucleotide polymorphisms by high-resolution melting of small amplicons. *Clin Chem.* 2004 Jul;50(7):1156-64.
10. Santos PC, Soares RA, Krieger JE, Guerra-Shinohara EM, Pereira AC. Genotyping of the hemochromatosis HFE p.H63D and p.C282Y mutations by high-resolution melting with the Rotor-Gene 6000® instrument. *Clin Chem Lab Med.* 2011 Oct;49(10):1633-6.

# Acidentes de trabalho com material biológico no setor hospitalar

## Accidents at work with biological material in hospital sector

Ricélli Francly Cardoso da Luz<sup>1</sup>  
Ana Laura Remédio Zeni Beretta<sup>2</sup>

### Resumo

Profissionais da saúde, principalmente em ambiente hospitalar, estão potencialmente expostos a ampla variedade de doenças. Estudos sobre o tema tornam-se relevantes no setor de biossegurança hospitalar. Tradicionalmente, os riscos ocupacionais presentes nessa ambiência são classificados em: agentes físicos, agentes químicos, agentes biológicos e organização do trabalho. Contudo, escolher um tema tão crítico igual a esse tem sua importância na área da saúde, pois inspira de uma maneira geral mais cuidados, mais cobranças em relação ao cumprimento de normas estabelecidas pela vigilância sanitária. Para evitar o risco de exposição ao material biológico, todo profissional deve ter à sua disposição equipamentos de proteção individual (EPIs), cuja finalidade é neutralizar a ação de certos acidentes. No Brasil, a escassez de dados sistematizados sobre esses acidentes não nos permite conhecer a magnitude global do problema, dificultando, assim, a avaliação das medidas preventivas utilizadas atualmente. Com base no exposto, este estudo, por meio de revisão literária, verificou a frequência de acidentes de trabalho com material biológico no hospital. Vários estudos mostram a ocorrência de acidentes com material biológico nos profissionais e o risco associado de desenvolvimento de doenças infecciosas, como hepatite B, C e AIDS.

### Palavras-chave

Acidentes de trabalho; Política de saúde do trabalhador; Saúde do trabalhador; Resíduos sólidos; Resíduos químicos; Resíduos perigosos

## INTRODUÇÃO

De acordo com o Ministério da Previdência Social, acidente do trabalho é aquele decorrente do exercício do trabalho a serviço da empresa ou do exercício do trabalho dos segurados especiais, podendo ocasionar lesão corporal ou distúrbio funcional, permanente ou temporário, morte e a perda ou a redução da capacidade para o trabalho.<sup>(1)</sup>

O trabalho no setor saúde é executado em locais onde existe constante exposição a fatores de risco de diversas ordens, que prejudicam aqueles que ali exercem atividades laborais. Entre os muitos agravos que acometem a saúde dos profissionais deste setor, destacamos os Acidentes de Trabalho (AT), que sobrevêm de maneira abrupta ou insidiosa no corpo dos trabalhadores, em decorrência do desgaste sofrido e provocado pela exposição às cargas de trabalho existentes nos processos de trabalho dos serviços de saúde.<sup>(2-4)</sup>

Dentre os riscos com materiais biológicos podemos destacar as doenças infecto-contagiosas como as princi-

pais fontes de transmissão de microrganismos para os profissionais.<sup>(5)</sup>

Outra importante fonte de contaminação refere-se ao contato direto com fluidos corpóreos durante a realização de procedimentos invasivos, ou pela manipulação de artigos, lixo e até mesmo as superfícies contaminadas, sem que medidas de biossegurança sejam utilizadas.<sup>6,7</sup>

Pode-se também ressaltar o fortalecimento de medidas de contenção biológica de microrganismos nas superfícies e artigos hospitalares por meio de adequado processamento que envolve a limpeza/desinfecção e/ou esterilização quando indicado. Nos últimos anos, destacaram-se os riscos envolvidos na manipulação de resíduos sólidos (lixo), de produtos químicos (desinfetantes) e as preocupações com riscos físicos e ergonômicos através de legislação específica. A legislação estabelecida pela Lei Federal 6.4318 e mantida através da Portaria MS Nº2616/989 determina que a CCIH é responsável pela implementação da política de prevenção e controle de

<sup>1</sup>Graduada em Ciências Biológicas pela Faculdade Integrada Maria Imaculada – Aluna do Curso de Especialização em Análises Clínicas – Mogi-Guaçu, SP, Brasil.

<sup>2</sup>Docente do programa de Mestrado em Ciências Biomédicas – Centro Universitário Hermínio Ometto – Uniararas – Araras, SP, Brasil.

Instituição: Fundação Hermínio Ometto – Araras, SP, Brasil.

Artigo recebido em 24/11/2012  
Artigo aprovado em 29/01/2016

agravos infecciosos à saúde de pacientes e profissionais no ambiente hospitalar.<sup>(8-11)</sup>

O problema dos AT com exposição a material biológico entre trabalhadores de saúde é uma preocupação mundial. A gravidade do problema entre trabalhadores americanos levou os Estados Unidos da América à formulação de lei que torna obrigatória a adoção de medidas preventivas à exposição aos riscos biológicos nas instituições de saúde. No Brasil, foi instituída, em 2005, uma Norma Regulamentadora, a NR-32,<sup>(6)</sup> que estabelece as diretrizes básicas para a aplicação de medidas de proteção à segurança e à saúde dos trabalhadores dos serviços de saúde, com a finalidade de melhorar as condições laborais nesses setores e minimizar os vários problemas ocupacionais existentes.

Os profissionais que lidam, direta ou indiretamente, com a saúde dos pacientes preocupam-se muito com a assistência oferecida aos usuários, priorizando o seu conforto e bem-estar, e pouco com os riscos inerentes à execução de suas atividades, que podem ser ampliados segundo a diversificação dos processos e organização do trabalho e pela especialidade da assistência. Esses trabalhadores podem sofrer alterações de saúde oriundas da presença da diversidade de agentes e do tempo e da intensidade do contato entre eles e os agentes.<sup>(12)</sup>

O presente estudo teve o objetivo de informar e orientar os riscos que os profissionais da área de saúde correm dentro de um ambiente hospitalar manuseando materiais biológicos. Além disso, o tema torna-se relevante pois auxilia em uma melhor capacitação e monitoramento sobre os riscos diários aos quais os demais profissionais estão sujeitos a adquirir no decorrer do trabalho.

Aprovado pelo Comitê de Ética do Centro Universitário Hermínio Ometto, com o número de protocolo 390/2012, o estudo fez uma revisão bibliográfica, cuja busca por materiais referentes ao tema abordado está baseada em artigos, revistas e dados eletrônicos como SciELO, LILACS e demais sites que abrangem o referido assunto.

## DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme verificado na literatura, a subnotificação dos acidentes de trabalho na área hospitalar é muito preocupante. Segundo Napoleão et al.,<sup>(13)</sup> esta é decorrente principalmente da avaliação do profissional de que a situação ou lesão ocorrida não é de risco. No entanto, outras causas, tais como o desconhecimento da obrigatoriedade da notificação do acidente, a falta de tempo devido ao excessivo ritmo de trabalho ou, até mesmo, o medo de demissão, são citadas entre os profissionais acidentados.<sup>(14)</sup>

Neste estudo, levanta-se também a possível influência da ausência de uma sede fixa da comissão para registro das ocorrências. A partir dos dados obtidos, é possível constatar que há uma grande luta contra os riscos ocasionados por material biológico no setor hospitalar e que vale ressaltar a importância do uso de EPIs para o controle de infecções, cuja fiscalização do uso desses equipamentos será de responsabilidade dos profissionais da saúde do setor da CCIH. É importante dizer que a saúde dos profissionais do setor hospitalar e, até mesmo, dos pacientes está sempre em primeiro plano, evitando assim problemas futuros.

Considerando os diversos agentes aos quais os profissionais de saúde estão expostos e as suas repercussões na saúde dos trabalhadores e na organização, percebe-se a relevância de um sistema que priorize os trabalhadores destes ambientes. A implantação de um Sistema de Gestão de Segurança e Saúde Ocupacional auxilia no reconhecimento e análise dos riscos ocupacionais nestes ambientes, com o objetivo de evitar ou minimizar a ocorrência de acidentes de trabalho, gerenciá-los, embasar as tomadas de decisões, as medidas de controle e de prevenção, e a promoção da conscientização sobre práticas seguras entre os profissionais.

### Abstract

*Health professionals, mainly in hospitals, are potentially exposed to the wide variety of diseases. Studies on the theme make it relevant in the bio sector. Traditionally, the occupational hazards present in this environment are classified into: physical agents, chemical agents, biological agents and organization of work. However choosing a theme so critical of this has its importance in the area of health, because it inspires in general more care, more charge in relation to compliance with standards set by the health surveillance. To avoid the risk of exposure to biological material all professional must have at their disposal personal protective equipment (Ppe), whose purpose is to neutralize the action of certain accidents. In Brazil, the paucity of systematic data on such accidents does not allow us to meet the global magnitude of the problem, thus making the evaluation of preventive measures used today. In the basis of the above, this study through the literary review, the frequency of accidents with biological material at the hospital. Several studies showing the occurrence of accidents with biological material in the professionals and the associated risk of developing infectious diseases such as hepatitis B, C and HIV/AIDS.*

### Keywords

*Containment of biohazards; Biological accidents and events; Accidents, occupational; Chemical waste; Solid waste; Hazardous waste*

## REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Previdência Social. Anuário estatístico da Previdência Social 2007. Brasília, 2007. Disponível em: [www.previdencia.gov.br/page/9/?s=anuario+estatistico](http://www.previdencia.gov.br/page/9/?s=anuario+estatistico). Acesso em: 05 mar. 2008.
2. Belei RA, et al. O impacto do acidente com material biológico na vida de profissionais e alunos de um hospital universitário. Espaço para Saúde. 2001;2(2). Disponível em: <http://www.ccs.uel.br/espacoparasauade/v2n2/doc/acidente.doc.htm>. Acesso em: 25 de Junho de 2012.

3. Cavalcante CAA, Enders BC, Menezes RM, Medeiros SM. Riscos ocupacionais do trabalho em enfermagem: uma análise contextual. *Cienc. Cuid. Saúde*. 2006;5(1). Disponível em: <http://eduem.uem.br/ojs/index.php/CiencCuidSaude/article/view/5144>. Acesso em: 25 de Junho de 2012.
4. Damasceno AP, Pereira MS, Silva e Souza AC, Tipple AFV, Prado MA. Acidentes ocupacionais com material biológico: a percepção do profissional acidentado. *Rev Bras Enfermagem*. 2006;59(1): 72-7.
5. Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora de Segurança e Saúde no Trabalho em Serviços de Saúde. Brasília. 2005.
6. Marziale MHP, Nishimura KYN, Ferreira MM. Riscos de contaminação ocasionados por acidentes de trabalho com material pérfuro-cortante entre trabalhadores de enfermagem. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. 2004;12(1):36-42.
7. Scheidt KLS, Rosa LRS, Lima EFA. As ações de biossegurança implementadas pelas comissões de controle de infecções hospitalares. *Rev. Enfermagem UERJ*. 2006;14(3):372-7.
8. Florêncio VB, Rodrigues CA, Pereira MS, Souza ACS. Adesão às precauções padrão entre os profissionais da equipe de resgate pré-hospitalar do Corpo de Bombeiros de Goiás. *Rev Eletrônica Enferm*. 2003;5(1). Disponível em: [http://www.fen.ufg.br/revista/re\\_vista5\\_1/adeseao.html](http://www.fen.ufg.br/revista/re_vista5_1/adeseao.html)
9. Fonseca AG, Bessa AB, Rêgo JRG, João Inácio Batista Lopes JIB, Brito TNS. Avaliação de métodos de controle de qualidade e biossegurança aos técnicos em laboratórios de Análises Clínicas da rede pública no município de Natal. *Ciências da Saúde*. Disponível em: <http://www.sbpnet.org.br/livro/62ra/resumos/resumos/2057.htm>
10. Tipple AVF, Aguiari HT, Souza ACS, Pereira MS, Mendonça ACC, Silveira C. Equipamentos de proteção em centros de material e esterilização: disponibilidade, uso e fatores intervenientes à adesão. *Cienc. Cuid. Saúde*. 2007, Out/Dez;6(4):441-8.
11. Vieira M, Padilha MICS. O HIV e o trabalhador de enfermagem frente ao acidente com material perfurocortante. *Rev. Esc. Enfermagem USP*. 2008;42(4):804-10.
12. Rapparini C, Saraceni V, Lauria LM, Barroso PF, Vellozo V, Cruz M, et al. Occupational exposures to bloodborne pathogens among healthcare workers in Rio de Janeiro, Brazil. *J Hosp Infect*. 2007 Feb;65(2):131-7.
13. Napoleão AA, Robazzi MLCC, Marziale MHP, Hayashida M. Causas de subnotificação de acidentes do trabalho entre trabalhadores de enfermagem. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. [internet]. 2000; 8(3):119- 20. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-11692000000300018&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-11692000000300018&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)
14. Marziale MHP, et al. Projeto de pesquisa. Rede de Prevenção de Acidentes de Trabalho com Material Biológico em Hospitais do Brasil (REPAT), Ribeirão Preto. Disponível em: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/1005/100515514010.pdf>. Acesso em: 25 Junho 2012.

---

Correspondência

**Ricélli Francy Cardoso da Luz**  
Av. Dr. Maximiliano Baruto 500  
13607-339 – Araras, SP, Brasil

# Colonização por MRSA no projeto piloto do estudo SHIP-Brasil

## MRSA colonization in the pilot project of the SHIP-Brazil study

Jéssica Cristina Feldhaus<sup>1</sup>

Tatiane K. R. Botelho<sup>2,3</sup>

Celina N. Yamanaka<sup>2</sup>

Alesandro Conrado S. Oliveira<sup>3</sup>

João Gurgel C. Da Silveira<sup>4,5</sup>

Caio Mauricio Mendes de Cordova<sup>3,6</sup>

### Resumo

**Objetivos:** *Staphylococcus aureus* é um importante agente de infecções comunitárias e infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). O que causa preocupação é o fato de que cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) são claramente capazes de causar infecção em pessoas previamente saudáveis, facilitando ainda mais sua disseminação na comunidade. Estima-se que cerca de 30% dos indivíduos saudáveis sejam portadores de MRSA, embora estes valores possam ser superiores nos doentes hospitalizados e nos profissionais de saúde. Com este projeto, procurou-se identificar portadores de MRSA numa população saudável. Para realizar o presente estudo foi realizada amostragem com 42 indivíduos da fase piloto do estudo SHIP-Brasil. **Métodos:** O SHIP-Brasil é um estudo multicêntrico de base populacional que reproduz, na cidade de Pomerode, SC, de forte ascendência germânica, os mesmos métodos utilizados no estudo SHIP, na Pomerânia alemã, através de uma parceria entre a Universidade de Blumenau e a Universität Greifswald. Para a triagem de MRSA foi desenvolvido um protocolo para transporte e cultura de amostras de swab nasal. A detecção de *Staphylococcus aureus* foi feita por cultura em meio de agar manitol e confirmação da espécie com agar DNase. Posteriormente, as cepas isoladas foram avaliadas, levando-se em consideração a resistência à cefoxitina. **Resultados:** Observou-se colonização nasal por *S. aureus* em vários indivíduos (17%), sendo que não houve confirmação de MRSA em nenhuma amostra da fase piloto. **Conclusão:** Desta forma, foi possível estabelecer a metodologia que busca avaliar o impacto dos fatores ambientais, sociais e genéticos associados à saúde e doença num grande estudo de base populacional.

### Palavras-chave

MRSA; *Staphylococcus aureus*; Resistência microbiana a medicamentos; Meios de cultura

## INTRODUÇÃO

*Staphylococcus aureus* é considerado parte da microbiota natural dos seres humanos, porém é um importante agente de infecções comunitárias e infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). A relação entre colonização e infecção ainda não é compreendida em sua totalidade, mas sabe-se que está associada a fatores intrínsecos do hospedeiro e também à cepa de *S. aureus* que o mesmo está carregando.<sup>(1)</sup> O estudo multicêntrico SENTRY, realizado em hospitais brasileiros durante os anos de 2005 a 2008, coloca *S. aureus* como principal agente de infecção da corrente circulatória (20,2%), principal agente de infecções de pele e tecidos moles (28,1%) e segundo agente mais comum de pneumonia em paci-

entes hospitalizados (24,9%).<sup>(2)</sup> Pode ser facilmente encontrado na pele e nas fossas nasais de indivíduos saudáveis. Embora as narinas apresentem o maior índice de colonização, a disseminação pode ocorrer de qualquer dos sítios, provocando doença e transmissão a outros indivíduos.<sup>(3)</sup> É válido lembrar que, devido à sua capacidade de resistir ao frio, *S. aureus* consegue permanecer viável por longos períodos em partículas de poeira, o que torna sua distribuição ainda mais ampla.<sup>(4)</sup>

Epidemiologicamente, as infecções relacionadas às cepas de CA-MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquiridas na comunidade), estão habitualmente associadas a crianças, jovens e pessoas saudáveis, especialmente as que vivem aglomeradas ou que têm estrito contato físico umas com as outras. A grande maioria dos

<sup>1</sup>Bolsista Pibic/CNPQ do curso de Farmácia da Universidade Regional de Blumenau – FURB – Blumenau, SC, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário/Ambulatório de Especialidades da FURB – Blumenau, SC, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Farmacêuticas da FURB – Blumenau, SC, Brasil.

<sup>4</sup>Departamento de Odontologia da FURB – Blumenau, SC, Brasil.

<sup>5</sup>Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva da FURB – Blumenau, SC, Brasil.

<sup>6</sup>Programa de Pós-graduação em Química da FURB. Campus III – Blumenau, SC, Brasil.

Conflitos de interesse: Não há conflitos de interesse.

Suporte financeiro: Pibic/CNPq, FURB, FAPESC/PPSUS.

Artigo recebido em 06/11/2014

Artigo aprovado em 01/02/2016

relatos na literatura relaciona atletas de esportes coletivos, indivíduos do serviço militar, encarcerados, usuários de drogas endovenosas, desabrigados e crianças de creches, sendo esses os indivíduos com risco aumentado de desenvolver infecções por CA-MRSA.<sup>(5)</sup>

Até no início da década de 90, os MRSA isolados estavam restritos a centros hospitalares. Porém, atualmente não pode mais ser associado somente às IRAS. Neste período, iniciaram os relatos de infecções por CA-MRSA em pacientes sem fatores de risco associáveis para aquisição de MRSA, ou seja, não tiveram contato direto ou indireto com serviço de saúde que pudesse justificar a infecção associada aos cuidados de saúde. Os CA-MRSA já foram descritos em vários locais do mundo, inclusive no Brasil.<sup>(6)</sup> Como já foi dito, as infecções provocadas por MRSA deixaram de ser um problema nosocomial e seu relato tem sido cada vez mais frequente na comunidade.

Um fato que causa preocupação é que as cepas mais recentes de MRSA são claramente capazes de causar infecção em pessoas previamente saudáveis, o que facilita ainda mais sua disseminação na comunidade.<sup>(3)</sup> Quanto à disseminação de HA-MRSA (MRSA em pacientes hospitalizados), em vários estudos, este e outros microrganismos multirresistentes têm sido isolados tanto das mãos como das luvas, dos aventais e de outros instrumentos utilizados pelos profissionais de saúde envolvidos no atendimento de pacientes colonizados ou infectados por esses agentes.<sup>(1)</sup> Estes autores ainda afirmam que há relatos do isolamento de MRSA em teclados de computador utilizados exclusivamente por médicos, e ainda encontraram uma incidência de 42% de contaminação das luvas usadas por enfermeiros que não tinham contato direto com o paciente, mas que tinham tocado superfícies no quarto de um paciente infectado por MRSA. A higiene das mãos é uma das medidas mais básicas de controle de infecção e deve ser realizada antes e após o exame do paciente, antes de entrar no quarto de um paciente, antes e após o uso de luvas. Nota-se que o uso de luvas não substitui a lavagem das mãos.<sup>(3)</sup>

Inicialmente, pensou-se que o CA-MRSA tivesse sido transmitido do hospital para a comunidade. O estudo do perfil genético e da suscetibilidade aos antibióticos veio demonstrar que as estirpes apresentam diferenças entre estas duas origens. As estirpes da comunidade apresentaram resistência aos betalactâmicos, mas mantêm sensibilidade a muitos outros antibióticos como os do grupo das lincomicinas, os aminoglicosídeos, o trimetoprim-sulfametoxazol, a rifampicina e as tetraciclina, fato que não é comum nas estirpes hospitalares.<sup>(7)</sup>

Segundo Alvarez, o uso de culturas de vigilância ativa (*Active Surveillance Cultures* – ASC) representa a triagem dos pacientes no momento da internação hospitalar para

identificar os portadores de MRSA (portadores prevalentes), seguido de exames periódicos para identificar os pacientes que adquirem MRSA durante a internação (casos incidentes). Vários estudos têm demonstrado que as ASC e as precauções de isolamento reduzem a transmissão de MRSA. Além disso, o controle a longo prazo do MRSA é possível. Estudos descreveram a erradicação completa de uma manifestação de MRSA por três anos em hospital após a implementação das ASC para identificar e isolar pacientes colonizados, sem levar em conta outras medidas (como a restrição do uso de certos antibióticos).<sup>(4)</sup>

Com a descoberta da penicilina, acreditava-se que a mortalidade por processos infecciosos não seria mais um problema. Apenas um ano após sua industrialização, já apareciam as primeiras cepas de *S. aureus* produtoras de penicilinas. Para tentar contornar a situação, foram desenvolvidos derivados semissintéticos da penicilina, resistentes à ação das betalactamases: a oxacilina e metilicina. Os antimicrobianos betalactâmicos têm como sítios de ligação proteínas existentes na parede das células bacterianas, as proteínas ligadoras de penicilinas (PBP). Com o passar do tempo e com o uso crescente deste grupo de antimicrobianos, *S. aureus* desenvolveu um mecanismo de resistência, promovendo a alteração estrutural destas PBPs, resultando numa proteína alterada chamada PBP 2a, com baixa afinidade de ligação aos antibióticos.<sup>(8)</sup>

Os mecanismos pelos quais *S. aureus* pode desenvolver resistência são muitos: bomba de efluxo, inativação de aminoglicosídeos e modificação nas PBPs e, em especial, uma alteração em PBP-2, que confere resistência a todos os betalactâmicos, originando cepas MRSA. O elemento genético responsável pela produção de PBPs alteradas é o gene *Meca*.<sup>(3)</sup> A presença deste gene implica na resistência a todos os antimicrobianos betalactâmicos. Cepas de *S. aureus* com este mecanismo de resistência são chamados de *Staphylococcus aureus* metilicina resistentes (MRSA).

A tipagem *SCCmec* é considerada uma das ferramentas moleculares mais importantes para entender a epidemiologia e relação clonal de isolados de MRSA, e muitos estudos têm mostrado que o *SCCmec* é um veículo para genes de resistência aos antibióticos.<sup>(9)</sup>

Na clínica, o diagnóstico se baseia em uma combinação de informações epidemiológicas, sintomas clínicos e na caracterização da linhagem infecciosa de MRSA. A Rede de Monitoração/Vigilância para Resistência aos Antibióticos, estabelecida com o apoio da Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), fornece informações epidemiológicas sobre resistência bacteriana para toda a América Latina. Alguns países, como Argentina, Chile, Equador, Uruguai e Venezuela, contam com um controle de qualidade organizado para auxiliar a vigilância local; já em outros países, a capacidade de formulação de diagnós-

ticos microbiológicos fica limitada a poucos hospitais universitários de grande porte nas cidades principais. Ressalta-se ainda que essas regiões contribuem com poucos dados, especialmente os relativos a MRSA adquirido na comunidade.<sup>(10)</sup>

O MRSA pode ser identificado laboratorialmente por métodos manuais, por métodos automáticos ou por testes rápidos, tais como meios cromogênicos, que podem, em 24 horas, dar indicação se a estirpe em estudo é sensível ou resistente à meticilina. Estes meios cromogênicos são muito utilizados nos hospitais dos países que têm uma abordagem de rastreamento sistemático e detecção precoce de portadores. Estes kits industriais permitem a identificação rápida e fiável (70% a 90%), embora sejam mais onerosos do que outros métodos.<sup>(7)</sup>

Diversos métodos têm sido utilizados para a detecção da resistência à oxacilina no *Staphylococcus aureus*, além dos meios cromogênicos. Essa detecção muitas vezes pode ser difícil, principalmente devido ao fenômeno da heteroresistência. Nos últimos anos, diversos autores têm demonstrado a boa acurácia do teste de disco-difusão com cefoxitina para o diagnóstico da resistência à oxacilina em estafilococos. Para *S. aureus*, os testes com disco de cefoxitina seriam, no mínimo, comparáveis em acurácia aos testes com discos de oxacilina, porém, em geral, o primeiro tem leitura mais fácil, devido ao maior halo e à possibilidade de ser lido utilizando luz refletida, e não transmitida, como no caso do disco de oxacilina, conforme preconiza o *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. Neste caso, vale lembrar que o disco de cefoxitina tem a finalidade de detectar resistência à oxacilina e não à própria cefoxitina, embora, caso resistente à cefoxitina, o resultado deve reportar resistência à oxacilina e à cefoxitina.<sup>(11)</sup>

Outro teste que pode ser utilizado para detecção da resistência com acurácia geralmente excelente é o teste de *screening*, com placa contendo agar Muller-Hinton suplementado com 4% de NaCl e 6 µg/ml de oxacilina. Este teste tem a vantagem de ser de baixo custo, sobretudo quando se deseja testar vários isolados ao mesmo tempo e apenas para oxacilina, por exemplo, em estudos de vigilância. Há também testes para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) da oxacilina, incluindo métodos de diluição em agar e em caldo (macro e microdiluição), e de gradiente de difusão em agar (Etest). A detecção do gene *mecA* por métodos moleculares é considerada o método *gold standard* para a avaliação qualitativa da resistência à oxacilina. No entanto, esse método não está amplamente disponível nos laboratórios. Um método com acurácia de 100% é a detecção do produto do gene *mecA*, a PBP2a, por meios de métodos de aglutinação em látex. Contudo, esses testes ainda são pouco difundidos e utilizados, principalmente devido ao seu custo.<sup>(12)</sup>

## MATERIAL E MÉTODOS

A população do SHIP-Brasil constitui-se de amostragem aleatória simples por sete estratos de faixa etária e sexo a partir de 20 anos com intervalos de dez anos, considerando a população por sexo de cada faixa etária, prevalência de 50%, precisão de 5% (IC de 95%), 20% para perdas e 20% para análise de confundimento, totalizando 3.091 pessoas da população de 27.759 habitantes de Pomerode (IBGE 2010). Para compensar perdas e dificuldades com recrutamento e adesão, a população a ser estudada foi aumentada para 4 mil indivíduos. Foram incluídos no estudo os indivíduos que residem no município há pelo menos seis meses e possuem 20 anos de idade ou mais. Foram excluídos do estudo os indivíduos que possuem qualquer limitação de ordem física ou mental que os impeça de responder os questionários ou realizar exames ou se recusar a assinar o TCLE. O estudo foi protocolado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos – CEPH, sob o nº 033/12 em 14 de junho de 2012.

A padronização e triagem de MRSA foi realizada na população da fase piloto do estudo, constituída de 42 indivíduos (homens e mulheres) sadios, com faixa etária dos 20 aos 60 anos, residentes em Pomerode, SC, por pelo menos seis meses. O estudo SHIP-Brasil compreende ainda um amplo questionário geral com variáveis socioeconômicas, demográficas, de estilo de vida, médico-assistenciais e mentais. Inclui ainda exames de ultrassonografia de coração, tireoide e carótidas, abdômen total e de calcâneo (para estimativa de risco de fratura óssea), além de vários exames laboratoriais.

No presente trabalho foram utilizadas amostras de *swab* nasal. As amostras foram armazenadas a -80°C após a cultura, e os resultados serão comparados com as demais informações coletadas no estudo.

Os procedimentos operacionais padrão (POPs) foram elaborados de forma clara e objetiva, contendo o protocolo realizado desde a coleta, processamento, identificação e armazenamento das amostras. A coleta foi realizada por integrantes do estudo SHIP entre junho a julho de 2014.

Com um *swab* de algodão estéril, o responsável pela coleta inseriu-o na narina do indivíduo e, em seguida, girou para então raspar a mucosa nasal. Em seguida, o *swab* foi inserido em um tubo tipo falcon contendo 2 mL de salina fosfatada tamponada estéril, pH 7,4 (PBS), armazenado a 4°C por no máximo 24 horas para cultura.

A detecção de *S. aureus* foi feita por cultura das amostras de *swab* nasal em placas descartáveis com meio agar Sal Manitol (HiMedia Labs, Mumbai, Índia). Esta placa foi incubada em estufa microbiológica por 36 horas.

As placas com crescimento bacteriano foram submetidas ao teste de DNase. O teste de DNase é usado para

detectar a degradação do ácido desoxirribonucleico (DNA), contido no meio de cultura, por bactérias que possuem uma enzima extracelular, a desoxirribonuclease, responsável pela reação. Caso o teste revele resultados negativos, descarta-se a amostra; se o resultado é positivo prossegue-se com o antibiograma.

A detecção de MRSA se deu através de inoculação da amostra em placas descartáveis contendo agar Muller Hinton (Oxoid, São Paulo, Brasil), com disco de cefoxitina. Cepas apresentando halos com diâmetro menor que 19 mm são consideradas MRSA; cepas com halo de diâmetro maior são consideradas *S. aureus* sensíveis à meticilina.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro desafio deste projeto foi desenvolver POPs que garantissem a qualidade dos procedimentos. Como estratégia para a garantia da qualidade e na tentativa de manter os processos livres de falhas, as organizações passaram a padronizar suas atividades.<sup>(13)</sup> O conceito e a importância do termo padronização têm sido relatados desde a Revolução Industrial como o processo de substituição da força humana pela força da máquina, sendo que a padronização dos processos de fabricação tinha o objetivo de se obterem produtos mais uniformes, com aumento de produção e qualidade do serviço.<sup>(14)</sup>

Assim como em diversos setores, na saúde também há preocupação com a qualidade da prestação dos serviços e em atingir seus objetivos de restabelecer a saúde, solucionar problemas e equilibrar disfunções, atendendo as expectativas e necessidades dos usuários e serviços. Com o objetivo de organizar as funções de microbiologia através da padronização, é necessário compreender o processo com o auxílio de uma representação sistematizada, como o Procedimento Operacional Padrão (POP), que descreve detalhadamente os passos a serem desenvolvidos para adequar e assegurar a qualidade da técnica.<sup>(14)</sup>

Das 42 amostras analisadas na fase piloto do estudo SHIP-Brasil, sete tiveram possível identificação de *Staphylococcus aureus* (Figura 1). Destas, apenas quatro foram confirmadas (Figura 2) e em nenhuma amostra foi detectada resistência, ou seja, nenhuma das 42 amostras confirmou presença de MRSA.

As doenças infecciosas estão entre as dez morbidades mais frequentes, responsáveis pelas mortes observadas na população brasileira, com base em dados de 2009 (4,3%). Entretanto, as informações disponíveis atualmente não objetivam o assunto em questão, há uma abordagem dos vários MRSA existentes, mas poucos estudos que tratem especificamente do CA-MRSA. O *S. aureus* tem sido sempre capaz de resistir aos antibióticos desen-

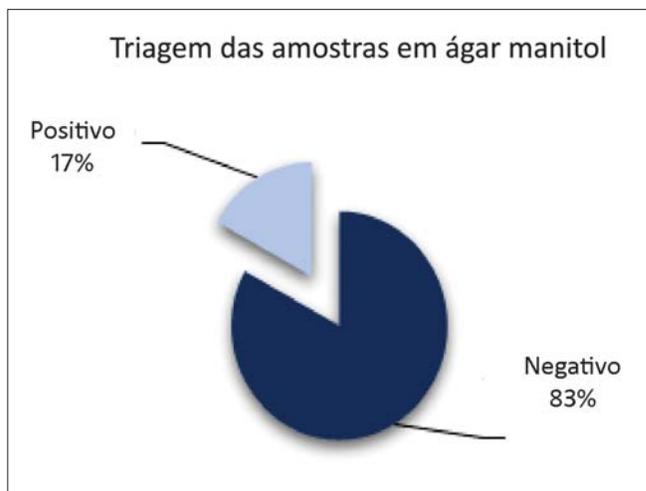


Figura 1. Amostras com resultado positivo para *Staphylococcus aureus* por triagem em ágar manitol.

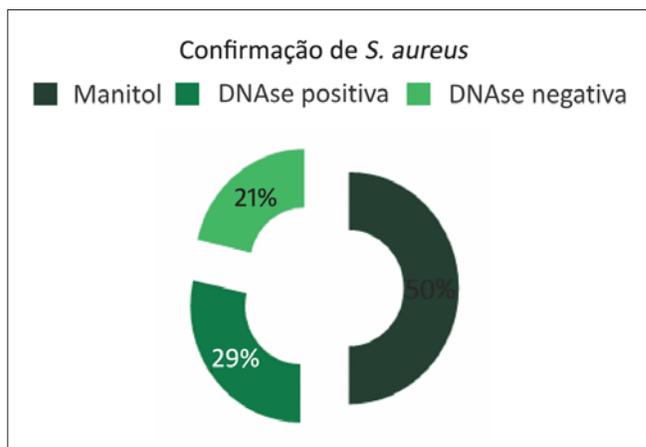


Figura 2. Porcentagem de positividade nos testes de confirmação da espécie bacteriana por sementeira em ágar DNase.

volvidos pelas empresas farmacêuticas durante os últimos 50 anos, e é quase certo que, mesmo no futuro, nunca estaremos livres de sua ameaça.<sup>(15)</sup>

A falta de estudos de prevalência é um fator limitante do conhecimento da epidemiologia local relacionada ao CA-MRSA. Um aspecto importante que pode facilitar o conhecimento da existência dessas cepas circulantes é o cultivo laboratorial de infecções de pele e tecidos moles em locais de atendimento primário, como as unidades de emergência dos hospitais, ou em centros de assistência dermatológica. Assim, com a identificação do microrganismo e a realização do teste de suscetibilidade, poderá ser instituído um tratamento apropriado e direcionadas as medidas de controle para esse patógeno.<sup>(3)</sup>

Uma vez que as cepas de MRSA são introduzidas em um hospital torna-se difícil a sua erradicação. Esta revisão atenta para o fato de que é importante a sensibilização do governo, hospitais e pessoal de saúde quanto

à importância de se estabelecerem treinamentos na educação à saúde. É necessário o estímulo ao uso de equipamentos de proteção individual (EPIs) na tentativa de se evitar a transmissão destas cepas a indivíduos hospitalizados, principalmente os imunocomprometidos, à equipe e aos visitantes, minimizando a ocorrência de infecções hospitalares.<sup>(16)</sup>

Se a pressão da seleção continuar e o controle destas infecções forem ineficazes, a propagação da resistência continuará a se espalhar e haverá mais organismos que são totalmente resistentes aos antibióticos atualmente disponíveis. Para se evitar isto, será necessário mudar os comportamentos atuais como o diagnóstico e a terapêutica.

Estima-se que cerca de 30% dos indivíduos saudáveis sejam portadores, embora estes valores possam ser superiores nos doentes hospitalizados e nos profissionais de saúde.<sup>(7)</sup>

Em Portugal, *Staphylococcus aureus* constitui um agente endêmico nas instituições de prestação de cuidados de saúde. A taxa de resistência à metilina, que atualmente ronda os 50%, tem permanecido elevada, e as recomendações existentes parecem não conseguir travar esta progressão.<sup>(7)</sup> Tanto que, em 2008, foi lançado o Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecção e Resistência aos Antimicrobianos, que tem como principal objetivo a vigilância contínua da infecção hospitalar, do consumo de antibióticos e da incidência de microrganismos multirresistentes, de modo que a taxa de bacteremias por MRSA no total, em 2015, deve ser menos que 90% da taxa de bacteremias por MRSA em 2012.<sup>(17)</sup>

Um estudo multicêntrico, realizado na Argentina, demonstrou uma alta prevalência de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina, isolado de infecções em crianças provenientes da comunidade. Dentre as 447 amostras analisadas nos anos de 2006 e 2007, 281 se encaixavam nos critérios definidos para CA-MRSA. O estudo enfatiza uma revisão urgente na terapia antimicrobiana empírica realizada para o tratamento de lesões de pele em crianças oriundas da comunidade. A elucidação das infecções causadas por cepas de CA-MRSA é de interesse especial aos dermatologistas, já que tem alta probabilidade de se apresentar como infecção de pele e tecidos moles.<sup>(18)</sup> Em 2003, no Missouri, EUA, um estudo realizado entre jogadores profissionais de futebol americano demonstrou a presença de MRSA em lesões de pele em cinco de 58 jogadores do time.<sup>(5)</sup>

Segundo Ferreira et al., os estudos no Brasil revelam diferentes frequências desse patógeno tanto de origem hospitalar quanto comunitária; no Rio Grande do Sul, detectaram-se 32,7% de isolados de *S. aureus* resistentes à oxacilina em pacientes internados em hospital de Caxias do Sul; já na comunidade observaram-se 7,5% de CA-

MRSA; em Recife, identificou-se a taxa de prevalência de 13% desta bactéria em amostras de pacientes de UTI; na cidade de Salvador (BA), há relatos de prevalência de 28% de MRSA; na Europa, a prevalência de MRSA oscila entre menos de 1% no norte até mais de 40% no sul e oeste; na Espanha, a resistência dos *S. aureus* à amoxicilina aumentou de 1,5%, em 1986, para 32,2% em 2002; nos Estados Unidos, pesquisas realizadas em diferentes cidades identificaram taxas de incidência de 31,8/100.000 habitantes de MRSA invasivos com mortalidade de 6,3/100.000 habitantes; em cidades como Minnessota, Portland e Atlanta, a frequência relatada dessas bactérias foi de 8% a 20%; já no Canadá, dados do programa de vigilância de infecção hospitalar têm revelado como a ocorrência de MRSA pode sofrer variações no país: 26% no oeste, 70% na região central e 4% no leste. O fato em comum é que há um evidente aumento da prevalência global deste gênero, seja ele de origem hospitalar ou de infecções comunitárias.<sup>(19)</sup>

As infecções causadas por essa bactéria frequentemente acometem a pele e tecido subcutâneo, sendo muito comum sua associação com dispositivos e aparelhos implantados, especialmente em pacientes cujo sistema imunológico encontra-se debilitado, bem como em crianças e idosos.<sup>(4)</sup> Algumas dessas infecções têm caráter agudo e podem gerar focos metastáticos, disseminando para outros tecidos. Há ainda o risco de infecções mais graves como bacteremia, pneumonia, osteomielite, endocardite, miocardite, pericardite, meningite, abscessos musculares e cerebrais.<sup>(3)</sup> É válido lembrar que estes últimos são episódios frequentemente associadas com alta morbidade e mortalidade.

## CONCLUSÃO

O uso indiscriminado de antimicrobianos é um fator determinante no surgimento de microrganismos multirresistentes e, por conseguinte, na elevação dos custos das internações. As principais circunstâncias que levam à utilização inadequada de antimicrobianos são o desconhecimento das doenças infecciosas, a imprecisão do diagnóstico e a não conscientização dos profissionais acerca da seriedade do problema da resistência bacteriana.<sup>(20)</sup>

É importante lembrar que o uso indiscriminado de antibióticos para uso veterinário cresceu exponencialmente nas últimas décadas. Em 2009, 80% dos antibióticos vendidos nos Estados Unidos foram usados em fazendas.<sup>(21)</sup>

Entretanto, não se conhece completamente quais os fatores que levam à colonização por MRSA na comunidade. Seriam apenas pessoas que tiveram contato com serviços hospitalares, ou com pessoas que usaram esses serviços? Haveria fatores sociais, nutricionais e ambientais

relacionados? Haveria uma predisposição genética para essa colonização e outros fatores que predisporiam à doença?

Estudos como o SHIP-Brasil têm o potencial de trazer à luz novas informações sobre os fatores associados à colonização por MRSA na comunidade.

### Agradecimentos

Ao Institut für Community Medicine - Universität Greifswald.

### Abstract

**Objectives:** *Staphylococcus aureus* is a major agent of community-acquired infections and related health care infections (IRAS). In the 1950s, the production of  $\beta$ -lactamases by *S. aureus* began to predominate in strains isolated from hospitalized patients. In 1960, methicillin was launched in the market as an alternative therapy for  $\beta$ -lactamase-producing strains, since this drug does not undergo the action of this enzyme. However, in the 1990s, reports of methicillin-resistant strains also came to be described and identified and called methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). What causes concern is the fact that MRSA strains are clearly capable of causing infection in previously healthy people, further facilitating its spread in the community. It is estimated that about 30% of healthy individuals are carriers of MRSA, although these values may be higher in hospitalized patients and health professionals. With this project, we sought to identify MRSA carriers in a healthy population. **Methods:** To perform this study, sampling was conducted with 42 individuals from the pilot phase of SHIP-Brazil study. The SHIP-Brazil is a multicenter population-based study, which replicates in the city of Pomerode, SC, with strong German descent, the same methods used in the SHIP study in German Pomerania, through a partnership between the University of Blumenau and the Universität Greifswald. For screening of MRSA a protocol was developed to obtain and transport nasal swab samples for culture. The detection of *Staphylococcus aureus* was performed by culture in mannitol salt agar and confirmation of the species in DNase agar. Subsequently the isolates were evaluated taking into account the resistance to cefoxitin. **Results:** We have observed nasal colonization by *S. aureus* on various subjects (17%), and there was no confirmation of MRSA in any sample of the pilot phase. **Conclusion:** Thus, we established a methodology to assess the impact of environmental, social and genetic factors associated with health and disease in a large population-based study.

### Keywords

MRSA; *Staphylococcus aureus*; Bacterial drug resistance; Culture media

### REFERÊNCIAS

- Gorwitz RJ. Understanding the success of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains causing epidemic disease in the community. *J Infect Dis* 2008;197(2):179-82.
- Gales AC, Sader HS, Ribeiro J, Zoccoli C, Barth A, Pignatari AC. Antimicrobial susceptibility of gram-positive bacteria isolated in Brazilian hospitals participating in the SENTRY Program (2005-2008). *Braz J Infect Dis*. 2009 Apr;13(2):90-8.
- Gelatti LC, Sukiennik T, Becker AP, Inoue FM, do Carmo MS, Castrucci FM, et al. Sepsis due to community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in southern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009 Jul-Aug;42(4):458-60. [Article in Portuguese].
- Alvarez C, Labarca J, Salles M. Estratégias de prevenção de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) na América Latina. *Braz J Infect Dis* [online]. 2010;14 suppl.2:107-8.
- Gelatti LC, Bonamigo RR, Becker AP, D Azevedo PA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: emerging community dissemination. *An Bras Dermatol*. 2009 Sep-Oct;84(5):501-6. [Article in Portuguese].
- Herold BC, Immergluck LC, Maranan MC, Lauderdale DS, Gaskin RE, Boyle-Vavra S, et al. Community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. *JAMA* 1998;279:593-8.
- Pedro ALPR de R. Dissertação: Mestrado. *Staphylococcus aureus* resistente à metilina: Percepção do risco e atitudes de enfermeiros de um centro hospitalar. Lisboa, 2011.
- Luna CM, Rodríguez-Noriega E, Bavestrello L, Gotuzzo E. Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children in Latin America. *Braz J Infect Dis*. 2010 Dec;14 Suppl 2:S119-27.
- Reiter KC. Dissertação: Mestrado. Distribuição dos SCCmec tipos I, II, III e IV em *Staphylococcus aureus* metilina-resistente isolados de pacientes do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre. 2009.
- Zurita J, Mejía C, Guzmán-Blanco M. Diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. *Braz J Infect Dis*. 2010 Dec;14 Suppl 2:S97-106.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI/NCCLS). Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15<sup>o</sup> Suplemento Informativo. M100-S15 Vol. 25 No 1. USA. 2005.
- Mimica MJ, Mendes CMF. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. *J Bras Patol Med Lab*. 2007;43(6):399-406.
- Duarte RL. Procedimento Operacional Padrão: A Importância de se padronizar tarefas nas BPLC. Curso de BPLC - ANVISA, 2005. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/reblas/cursos/qualidade19/MP%20\\_apostila\\_%205%20-%20final.pdf](http://www.anvisa.gov.br/reblas/cursos/qualidade19/MP%20_apostila_%205%20-%20final.pdf)> Acesso em 05 de nov. de 2013.
- Guerrero GP, Beccaria LM, Trevizan MA. Standard Operating Procedure: use in nursing care in hospital services. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2008 Nov-Dec;16(6):966-72.
- Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*. 2001 Oct;9(10):486-93.
- Ratti RP, Sousa CP. *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA) e infecções nosocomiais. *Rev Ciênc Farm Básica*. 2009;30(2):9-16.
- Valadas MMB. Dissertação: Mestrado. Prevalência de colonização por MRSA no Centro Hospitalar P.Varzim/V.Conde. Universidade de Aveiro. Portugal, 2010.
- Paganini H, Della Latta MP, Muller Opet B, Ezcurra G, Uranga M, Aguirre C, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in children: multicenter trial. *Arch Argent Pediatr*. 2008 Oct;106(5):397-403. [Article in Spanish].
- Ferreira AW, Vasconcelos WS, Ferreira CM, Silva MFP, Gomes JS, Alecrim MGC. Prevalência de *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA) em pacientes atendidos em ambulatório de dermatologia geral em Manaus-Amazonas. *Rev Patol Trop* 2009; 38:83-92.
- Anvisa. Manual de Microbiologia Clínica para o controle de infecção em serviços de saúde. Brasília: Ministério da Saúde. 2004.
- Mole B. Pigs carrying methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* were found on us farms for the first time in 2007. MRSA: Farming up trouble. *Nature*. 2013 Jul 25;499(7459):398-400.

Correspondência

**Caio Maurício Mendes de Cordova**  
Programa de Pós-graduação em Química da FURB. Campus III  
Rua São Paulo, 2171 – Itoupava Seca  
89030-000 – Blumenau, SC, Brasil  
[cmcordova@furb](mailto:cmcordova@furb)

# Suscetibilidade a antifúngicos e fatores de virulência de *Candida* spp. isoladas em Russas, Ceará

## Antifungal susceptibility and virulence factors of strains *Candida* spp. isolated in Russas, Ceará

Everardo Albuquerque Menezes<sup>1</sup>

Alana Cláudia Lima Barbosa<sup>2</sup>

Maria da Conceição dos Santos Oliveira Cunha<sup>1</sup>

Luana Guabiraba Mendes<sup>1</sup>

Francisco Afrânio Cunha<sup>1</sup>

### Resumo

O objetivo desse estudo foi avaliar a suscetibilidade e os fatores de virulência de cepas de *Candida* spp. isoladas de amostras de urina de pacientes em Russas, Ceará, Brasil. As cepas foram semeadas em agar batata dextrose e incubadas a 37°C por 24/48 horas. Após esse período, as cepas foram inoculadas em meio cromogênico e incubadas a 37°C por 24/48 horas. Doze cepas de leveduras foram identificadas (Oito *Candida albicans*, duas *Candida tropicalis*, uma *Candida glabrata*, uma *Candida parapsilosis*). A produção de slime e de exoenzimas (proteínase, coagulase e fosfolipase) foram determinadas. O perfil de sensibilidade foi realizado pelo método de disco difusão em meio Mueller-Hinton agar modificado. Os discos continham: fluconazol (25 µg), itraconazol (30 µg) e anfotericina B (100 µg). As placas foram lidas após 24 horas. As zonas de inibição foram mensuradas e a interpretação foi realizada como descrita no protocolo do CLSI M44-A. *C. albicans* ATCC 10231, *C. albicans* ATCC 14053, *C. parapsilosis* ATCC 22019 foram incluídas no estudo. Foi observada uma elevada atividade de fosfolipase e coagulase, principalmente em cepas de *C. albicans*. Foi observada uma elevada proporção de cepas de *C. albicans* resistentes aos antifúngicos triazólicos. Todas as cepas foram sensíveis a anfotericina B. Candidúria era relativamente incomum e ignorada.

### Palavras-chave

Candidúria; Fatores de virulência; Antifúngicos

## INTRODUÇÃO

O termo candidúria, que não necessariamente envolve a presença de sinais e/ou sintomas de infecções urinárias, pode ser definido como o crescimento de *Candida* spp. em culturas de urina coletada por técnicas apropriadas. Trata-se de evento muito frequente entre pacientes expostos a fatores de riscos, sendo que até 20% de pacientes hospitalizados podem apresentar candidúria ao longo de sua internação, particularmente pacientes de unidade de terapia intensiva. Este achado laboratorial traz dilemas em relação à sua interpretação, visto que pode corresponder à simples contaminação da urina durante a coleta até candidúria assintomática, cistite ou pielonefrite, candidíase renal primária, bola fúngica ureteropélvica ou candidíase disseminada com manifestação renal.<sup>(1)</sup>

A incidência de fungos no trato urinário tem aumentado gradualmente e é um importante problema de saúde

pública. Cerca de 10% a 15% de infecções urinárias são devidas à *Candida* spp.<sup>(2,3)</sup>

A capacidade patogênica das *Candida* spp. está relacionada a uma combinação de fatores que contribuem para a sua virulência, destacando-se a produção de enzimas extracelulares. Diversas enzimas hidrolíticas, que auxiliam no processo de invasão tecidual, são produzidas por *Candida* spp. Dentre essas, as principais são proteínase, fosfolipase, hialuronidase, coagulase e condroitina sulfatase.<sup>(4-6)</sup>

Antifúngicos existem em número limitado e muitos atuam na síntese do ergosterol, o principal esteroide presente nas membranas fúngicas. Essas substâncias podem ainda agir em constituintes da parede celular de fungos. Agindo sobre a membrana celular, os derivados poliênicos se ligam ao ergosterol, provocando a formação de canais que ocasionam a morte da célula. Poliênicos têm sido empregados há mais de 50 anos, mas sua utilização é limitada devido à sua elevada toxicidade.<sup>(7)</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Microbiologia do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará – DACT/FFOE/UFC – Fortaleza, CE, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório da Prefeitura Municipal de Russas, CE, Brasil.

Artigo recebido em 24/05/2011

Artigo aprovado em 19/02/2016

Os antifúngicos azólicos, que também atuam sobre o ergosterol da membrana celular, são os mais utilizados e foram desenvolvidos acerca de duas décadas. Estes são compostos heterocíclicos que inibem a enzima fúngica lanosterol 14 $\alpha$ -demetilase, que catalisa um passo tardio da síntese do ergosterol. Essa inibição depleta o conteúdo de ergosterol das membranas e resulta em acumulação de esteróis intermediários tóxicos que inibem o crescimento fúngico.<sup>(7-9)</sup>

O objetivo desse trabalho foi avaliar a sensibilidade de cepas de *Candida* spp. isoladas de urina de pacientes atendidos no Laboratório de Análises Clínicas da Prefeitura Municipal de Russas, município localizado no interior do estado do Ceará.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Origem das amostras

Foram incluídas no estudo 12 amostras de *Candida* spp. provenientes de pacientes com candidúria atendidos no Laboratório de Análises Clínicas no município de Russas durante o período de janeiro de 2008 a dezembro de 2008. Os pacientes que apresentavam *Candida* spp. na urina, observadas na realização do sumário de urina, tinham a urina semeada em agar batata dextrose (ABD) com antibióticos e cicloheximida. As cepas foram incubadas a 35°C por 24/48 horas e, após o crescimento, foram guardadas na geladeira em temperatura de 2° a 8°C, até o momento do transporte para o Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Ceará, na cidade de Fortaleza.

### Identificação das amostras

As cepas foram semeadas em meio cromógeno agar Hicrome Candida® e incubadas a 35°C, por 24/48 horas. Esse meio cromógeno identifica as cepas de leveduras de acordo com a cor produzida, a saber, verde: *Candida albicans*; azul: *Candida tropicalis*; rosa: *Candida krusei*; violeta: *Candida glabrata*; branca a rósea: outras espécies, incluindo *Candida parapsilosis*. A confirmação das identificações das cepas foi realizada com o teste do microcultivo em agar arroz com tween 80.<sup>(10)</sup>

### Avaliação dos fatores de virulência

Proteinase e fosfolipase: A determinação da proteinase e fosfolipase foi realizada segundo a metodologia descrita por Price et al.<sup>(11)</sup> e Rùchel et al.,<sup>(12)</sup> e as leituras realizadas após cinco dias. A presença da atividade da proteinase foi verificada pela formação de um halo transparente e de fosfolipase pela formação de um halo opaco ao redor da colônia. A atividade enzimática de ambas as enzimas foi medida, e foi calculado o PZ (zona de precipitação). Quando o PZ=1,0 (não apresentava enzimática),

0,63 <PZ<1,0 (atividade enzimática moderada) e PZ<0,63 (forte atividade enzimática).<sup>(11,12)</sup>

Coagulase: *Candida* spp. tem a habilidade de produzir coagulase e pode ser um importante fator de virulência. Em um tubo foram colocados 500  $\mu$ L de plasma humano e 100  $\mu$ L de uma suspensão de leveduras 0,5 na escala de MacFarland. As cepas foram incubadas a 35°C por quatro horas. Após esse período, a formação de coágulos foi avaliada. Se coágulos não eram observados, nova incubação era procedida, por até 24 horas.<sup>(13)</sup>

Slime: O slime é um polímero de carboidrato secretado por cepas de *Candida* spp. que ajuda a fixação em próteses e cateteres, semelhante a um biofilme. Cada cepa foi semeada em placa de agar infusão de cérebro-coração (BHIA) suplementado com 5% de glicose e vermelho do congo. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas e, após a incubação, as colônias positivas para produção de slime apresentaram coloração negro-brilhante.<sup>(14)</sup>

### Teste de sensibilidade a antifúngicos

A sensibilidade das cepas de *Candida* spp. isoladas de pacientes com candidúria foi avaliada pelo método de disco difusão em agar Mueller-Hinton suplementado com 2% glicose e 0,5  $\mu$ g/mL de azul de metileno (AMHGAM). Os discos de antifúngicos testados foram: anfotericina B (100  $\mu$ g), fluconazol (25  $\mu$ g) e itraconazol (30  $\mu$ g). As cepas foram inoculadas em meio AMHGAM e incubadas a 35°C por 24 horas. Decorrido esse período, os halos foram medidos e as cepas foram classificadas de acordo com seu perfil de sensibilidade em sensível (S), sensível dose-dependente (SDD) e resistente (R), de acordo com o protocolo M44-A2 do CLSI.<sup>(15,16)</sup> Em todas as fases do experimento, foram utilizadas, como controle, as cepas *C. albicans* ATCC- 14053, *C. albicans* ATCC-10231 e *C. parapsilosis* ATCC 22019. Os testes foram realizados em triplicata.

## RESULTADOS

Cepas de *C. albicans* são as mais comumente isoladas de amostras de urina, no entanto, outras cepas de *Candida* spp. começam a ser isoladas desse sítio anatômico. No presente estudo, foram isoladas 12 cepas de *Candida* spp. A distribuição das cepas encontradas pode ser visualizada na Figura 1.

Nos últimos anos, diferentes meios cromógenos de cultura com capacidade de diferenciar *C. albicans* e outras leveduras de interesse clínico têm sido comercializados. Esses meios têm como fundamento a alteração na cor desenvolvida pelas colônias através de indicadores de pH e fermentação de compostos específicos ou substratos cromógenos.<sup>(17-19)</sup>

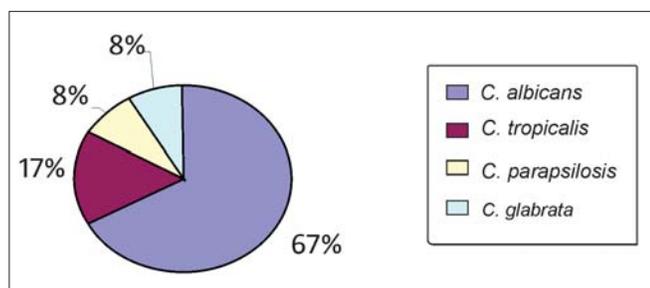


Figura 1. Identificação das cepas de *Candida* spp. isoladas de amostras de urina no município de Russas, Ceará.

Foram avaliados diversos fatores de virulência: proteínase, fosfolipase, coagulase e produção de slime.

Na Figura 2 são destacados os halos de precipitação em torno da colônia de *Candida* spp. Algumas espécies de *Candida* spp. não apresentam halo. A espécie de *C. parapsilosis* não produz fosfolipase. Das cepas de *C. albicans*, sete (87,5%) produziram fosfolipase com a atividade entre moderada e forte. O valor de PZ variou entre  $0,63 \leq PZ \leq 0,88$ . As cepas nas condições experimentais utilizadas não apresentaram atividade proteolítica.

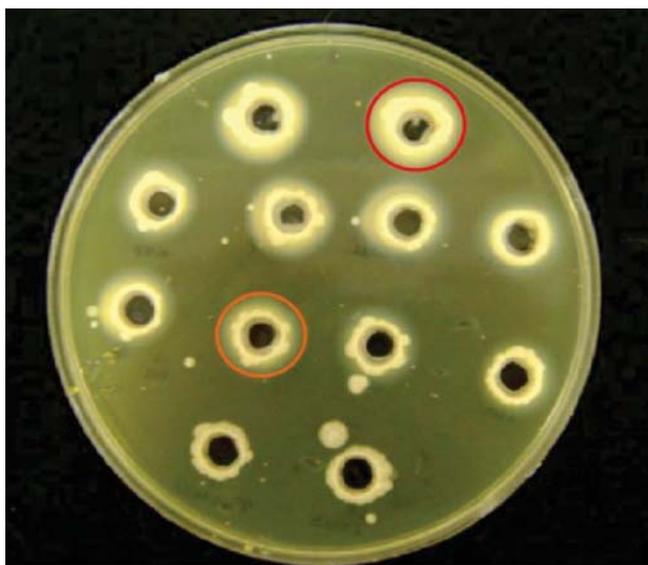


Figura 2. Teste de Fosfolipase de cepas *Candida* spp. isoladas de urina no município de Russas, Ceará.

Cepas de *Candida* spp. podem produzir coagulase responsável pela coagulação do plasma *in vitro* e *in vivo*. Setenta e cinco por cento das cepas produziram coagulase. Outro fator de virulência importante é o slime. Somente uma cepa de *C. albicans* produziu esse elemento.

A sensibilidade de cepas de *Candida* spp. é importante para o acompanhamento da resistência aos antifúngicos. O perfil de sensibilidade é mostrado na Tabela 1.

Em populações que não estão expostas a fatores de risco, em indivíduos saudáveis e assintomáticos, a candidúria é um achado raro, podendo ser uma simples contaminação da amostra. Alguns autores sugerem que existe maior relação entre candidúria e infecção urinária quando a contagem de colônias na urina atinge valores na ordem de 103 a 104 UFC/mL.<sup>(1)</sup>

Pfaller et al.<sup>(20)</sup> avaliaram 140.767 isolados clínicos de leveduras provenientes de 127 centros médicos distribuídos entre Ásia (23), América Latina (16), Europa (74), América do Norte (12) e Oriente Médio (2).

Esses isolados foram obtidos de diferentes materiais biológicos como sangue, trato genital, trato gastrointestinal e trato respiratório, no período de janeiro de 1997 a dezembro de 2003. Mais de 16 espécies diferentes de *Candida* foram isoladas, sendo que *C. albicans* foi a espécie mais frequente (66,2%). Uma diminuição no número de isolados de *C. albicans* foi observada no decorrer dos sete anos de estudo, variando de 10% a 11%. Em contraste, durante este mesmo período, observou-se um aumento no número de isolados de *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* da ordem de 2,9% e 3,1%, respectivamente. No presente trabalho foram identificados 67% de cepas de *C. albicans*, sendo esta a espécie mais isolada (Figura 1).

Em um estudo com cem amostras de leveduras isoladas de urina, provenientes de Hospital Público Infantil de São Paulo Brasil, no período de 1999-2004, a espécie mais prevalente foi *C. albicans*, seguida de *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis*.<sup>(21)</sup> A segunda levedura mais isolada neste estudo foi a *C. tropicalis* (Figura 1).

Nos EUA, em outro estudo com um total de 67 *Candida* spp. isoladas de urina, foi observada a seguinte

Tabela 1 - Perfil de sensibilidade das cepas de *Candida* spp. isoladas de candidúria

Cepa	Anfotericina B		Fluconazol			Itraconazol	
	S	R	S	SDD	R	S	R
<i>Candida albicans</i> (8)	8 (100%)	-	2 (25%)	3 (37,5%)	3 (37,5%)	4 (50%)	4 (50%)
<i>Candida tropicalis</i> (2)	2 (100%)	-	1 (50%)	1 (50%)	-	1 (50%)	1 (50%)
<i>Candida parapsilosis</i> (1)	1 (100%)	-	-	-	-	1(100%)	-
<i>Candida glabrata</i> (1)	1 (100%)	-	1 (100%)	-	-	1 (100%)	-

S - sensível; R - resistente; SDD - sensível dose dependente.

distribuição: *C. albicans* (54%), *C. glabrata* (36%) e *C. tropicalis* (10%).<sup>(22)</sup>

A identificação de leveduras é realizada pela utilização de meios que avaliam fermentação, assimilação de carboidratos. Esses testes são laboriosos, demandam tempo e podem apresentar resultados incertos. Os kits comerciais de identificação são caros e tornam-se de difícil aquisição para laboratórios de microbiologia de pequeno e médio porte no Brasil, ficando a identificação de leveduras das espécies a cargo de laboratórios de microbiologia de referência. Os laboratórios de microbiologia de pequeno porte realizam apenas o isolamento primário e a coloração de Gram, ou seja, técnicas que não permitem a identificação das espécies. Neste sentido, a utilização de meios seletivos e diferenciais para o isolamento de *Candida* spp. tem se tornado comum, nos últimos anos, em laboratórios menores. O CHROMagar *Candida* é um meio seletivo para o isolamento de leveduras que facilita a diferenciação e a identificação das principais espécies de *Candida*. As leveduras produzem enzimas que reagem com substratos cromógenos, produzindo colônias de diferentes cores. Essas enzimas são específicas e algumas leveduras podem ser identificadas em nível de espécie a partir da coloração que apresentam. Colônias de *C. albicans* e *C. dubliniensis* produzem colônias verde claro e verde escuro, respectivamente. As colônias de *C. tropicalis* aparecem azul metálico, colônias de *C. krusei* aparecem rosa claro. Outras leveduras aparecem creme ou desenvolvem um pigmento roxo.<sup>(23)</sup> Esses meios cromógenos têm demonstrado eficiência na identificação de cepas de *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis* em vários estudos, sendo que a identificação da *C. glabrata* continua controversa.<sup>(24,25)</sup> No presente estudo foi possível a identificação, e a confirmação ocorreu com a micromorfologia.

Araújo et al.<sup>(26)</sup> observaram, em seu estudo, que o meio cromógeno se mostra útil na detecção de leveduras em material clínico que contenha cultura mista de *Candida*, cuja característica de crescimento em agar de Sabouraud dextrose não permite esta diferenciação. Os autores concluíram que a utilização desse meio contribui para um diagnóstico rápido das infecções causadas por leveduras do gênero *Candida*, favorecendo a aplicação de uma terapia antifúngica precoce e adequada.

Entre as enzimas mais importantes secretadas pela *C. albicans* tem-se a fosfolipase, que degrada fosfolípidios da membrana das células; a proteinase, que pode degradar anticorpos dentre outros substratos proteicos. Em relação à ação fosfolipásica, foi verificado, em estudo realizado por Menezes et al.,<sup>(5)</sup> com cepas de *C. albicans* isoladas de candidíase mamária, que 45,4% apresentaram atividade enzimática moderada (entre 0,64 e 0,99), e 54,6%, uma elevada atividade enzimática (PZ menor do

que 0,63). As amostras não apresentaram ação da enzima proteinase. No presente trabalho, as cepas apresentaram atividade fosfolipásica e não apresentaram atividade proteolítica. A atividade enzimática de *C. albicans* isoladas da mucosa bucal de crianças foi avaliado por Menezes et al.<sup>(6)</sup> Foram observadas que seis (20%) cepas apresentaram PZ positiva para proteinase e dez (33%) mostraram positividade para fosfolipase.<sup>(6)</sup>

A produção de slime e coagulase pode ser fator de virulência importante na determinação da patogenicidade de *Candida*. A produção de slime entre as cepas aqui estudadas foi muito pequena, apenas uma cepa foi slime-positivo. No entanto, 75% das cepas produziram coagulase.

O uso de discos de fluconazol é um método adequado para triagem e detecção de leveduras resistentes a esse antifúngico. O teste apresenta boa reprodutibilidade quando lido após 24 horas (95%).<sup>(27)</sup> Na presente análise, todos os halos foram medidos após 24 horas. O teste se mostrou de fácil execução e interpretação.

A partir dos estudos de Barry et al.,<sup>(28)</sup> foi demonstrado que o teste de disco-difusão com discos de fluconazol pode ser maximizado pelo uso de agar Mueller-Hinton com glicose e azul de metileno com incubação restrita de 24 horas. De acordo com esses autores, somente 1% das cepas não cresceram adequadamente em 24 horas. Houve boa concordância entre o método de referência microdiluição em caldo e o teste de disco-difusão.

Um total de 2.949 de *Candida* spp. foi testado pelo método de disco-difusão e pelo método de referência microdiluição em caldo. Foram obtidos concordância de 92,8% entre os métodos. O teste de disco-difusão foi adequado para detectar cepas de *Candida* spp. resistentes aos antifúngicos.<sup>(29)</sup> Na presente avaliação, os testes foram lidos com 24 horas e demonstraram ser reprodutíveis e de fácil execução.

Todas as cepas estudadas neste trabalho foram sensíveis à anfotericina B. Ocorreu uma elevada resistência ao fluconazol (37,5%) e ao itraconazol (50%) entre as cepas de *C. albicans* isoladas de amostras de urina. Foram encontradas 37,5% das cepas de *C. albicans* sensível dose dependente (SDD) – Tabela 1. A resistência aos antifúngicos azólicos foi mais elevada do que normalmente relatado na literatura.<sup>(1,30)</sup>

## CONCLUSÃO

A partir deste estudo, realizado na cidade de Russas, Ceará, é possível concluir que:

(1) Foram isoladas em candidúria, em Russas, as seguintes leveduras: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis*;

- (2) Foi observada uma elevada atividade de fosfolipase e coagulase, principalmente em cepas de *C. albicans*;
- (3) Foi observada uma elevada proporção de cepas de *C. albicans* resistentes aos antifúngicos triazólicos;
- (4) Todas as cepas foram sensíveis a anfotericina B.

### Agradecimentos

Ao CNPQ pelo financiamento do projeto.

### Abstract

*The purpose of this study was to evaluate the susceptibility and virulence factors of strains Candida spp. isolated of urine in Russas, Ceará-Brazil. The strains were streaked onto Potato glucose agar plates at 37°C for 24/48 hours. After this period, the strains were streaked onto chromogenic media agar plates and incubated at 37°C for 24/48 hours. Twelve yeasts isolates have been evaluated (Eight Candida albicans, two Candida tropicalis, one Candida glabrata, one Candida parapsilosis). Slime and exoenzymes (proteinase, coagulase, and phospholipase) production tests and determination of their levels were performed. Susceptibility testing was evaluated in medium Mueller-Hinton agar modified was used disk diffusion testing. Paper disks containing: fluconazole (25 µg), itraconazole (30 µg) and amphotericin B (100 µg) were used. Plates were read after 24 hours. Zones of inhibition were read and interpretation of zone diameters was as described in CLSI M44-A. The following reference strains were also included in the studies: C. albicans ATCC 10231, C. albicans ATCC 14053, C. parapsilosis ATCC 22019. A higher phospholipase and coagulase activity was also observed for C. albicans. A relatively higher proportion of triazole-resistant isolates was obtained from Candida spp. isolated of urine in Russas. All strains were susceptible to amphotericin B. Candiduria was previously uncommon and largely ignored.*

### Keywords

Candiduria; Virulence factors; Antifungal agents

### REFERÊNCIAS

- Colombo AL, Guimaraes T. Epidemiology of hematogenous infections due to *Candida* spp. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36(5):599-607.
- Alvarez-Lerma F, Nolla-Salas J, León C, Palomar M, Jordá R, Carrasco N, Bobillo F; EPCAN Study Group. Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units. *Intensive Care Med*. 2003 Jul;29(7):1069-76.
- Weinberger M, Sweet S, Leibovici L, Pitlik SD, Samra Z. Correlation between candiduria and departmental antibiotic use. *J Hosp Infect*. 2003 Mar;53(3):183-6.
- Ashman RB, Papadimitriou JM Production and function of cytokines in natural and acquired immunity to *Candida albicans* infection. *Microbiol Rev*. 1995 Dec;59(4):646-72.
- Menezes EA, et al. *Candida* ssp. isolation in the breast feeding mothers' nipples from the human milk bank at the Universidade Federal do Ceará and susceptibilities to the antifungal agents tests. *J Bras Patol Med Lab*. 2004;40(5):299-305.
- Menezes EA, et al. Frequência e atividade enzimática de *Candida albicans* isoladas da mucosa bucal de crianças de uma creche da prefeitura de Fortaleza. *J Bras Patol Med Lab*. 2005;41(1):9-13.
- Cowen LE, Steinbach WJ. Stress, drugs, and evolution: the role of cellular signaling in fungal drug resistance. *Eukaryot Cell*. 2008 May;7(5):747-64.
- Atkins RA. An update on antifungal targets and mechanisms of resistance in *Candida albicans*. *Med Mycol*. 2005 Jun;43(4):285-318.
- Canon RD, Lamping E, Holmes AR, Niimi K, Tanabe K, Niimi M, Monk BC. *Candida albicans* drug resistance another way to cope with stress. *Microbiology*. 2007 Oct;153(Pt 10):3211-7.
- Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heinz-Vaccari EM, Melo NT. *Tratado de Micologia Médica*. Lacaz. 9a edição, São Paulo, SP: Sarvier. 2002.
- Price MF, Wilkinson ID, Gentry LO. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*. 1982 Mar;20(1):7-14.
- Rüchel R, Tegeler R, Trost M. A comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. *Sabouraudia*. 1982 Sep;20(3):233-44.
- Rodrigues, AG, Pina-Vaz, C, Costa-De-Oliveira S, Tavares C. Expression of plasma coagulase among pathogenic *Candida* species. *J Clin Microbiol*. 2003 Dec;41(12):5792-3.
- Gündogan N, Citak S, Turan E. Slime production, DNase activity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk, pasteurized milk and ice cream samples. *Food Control*. 2006;17:389-92.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved standard M44-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2009.
- Espinel-Ingroff A, et al. Standardized disk diffusion method for yeasts. *Clin Microbiol. Newsletter*. 2007;29: 97-100.
- Carrillo-Muñoz AJ, Quindós G, Cárdenes CD, Alonso-Vargas R, Arévalo P, Brió S, Madariaga L. Evaluation of Chromalbicans Agar for presumptive identification of *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol*. 2001 Sep;18(3):105-8. [Article in Spanish].
- Foongladda S, Haouharn P, Sakulmaiwatana P, Chairprasert A. Comparative evaluation of Candi Select test and conventional methods for identification of *Candida albicans* in routine clinical isolates. *Mycoses*. 2002 Apr;45(3-4):75-8.
- Fotadar R, al-Hedaithy SS. Identification of chlamydospore-negative *Candida albicans* using CHROMagar *Candida* medium. *Mycoses*. 2003 Apr;46(3-4):96-103.
- Pfaller MA, Diekema DJ, Rinaldi MG, Barnes R, Hu B, Veselov AV, et al. Results from the Artemis Disk Global Antifungal Surveillance Study: a 6.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol*. 2005;43(12): 5848-59.
- Silva V, Diaz MC, Febré N; Chilean Invasive Fungal Infections Group. Invasive fungal infections in Chile: a multicenter study of fungal prevalence and susceptibility during a 1-year period. *Med Mycol*. 2004 Aug;42(4):333-9.
- Jain N, Kohli R, Cook E, Gialanella P, Changt, Fries BC. Biofilm formation by and antifungal susceptibility of *Candida* isolates from urine. *Appl Environ Microbiol*. 2007 Mar;73(6):1697-703.
- Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J Clin Microbiol*. 1994 Aug;32 (8): 1923-9.
- Hospenthal DR, Murray CK, Beckius ML, Green JA, Dooley DP. Persistence of pigment production by yeast isolates grown on CHROMagar *Candida* medium. *J Clin Microbiol*. 2002 Dec;40(12): 4768-70.
- Huang LU, Chen CH, Chou CF, Lu JJ, Chi WM, Lee WH. A comparison of methods for yeast identification including CHROMagar *Candida*, Vitek system YBC and a traditional biochemical method. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)*. 2001 Oct;64(10):568-74.
- Araújo CR, Miranda KC, Passos XS, Souza LKH, Lemos JA, Khrais Cha, et al. Identificação das leveduras do gênero *Candida* por métodos manuais convencionais e pelo método cromógeno chromagar *Candida*. *Rev Patol Trop*. 2005; 34:37-42.

27. Kirkpatrick WR, Turner TM, Fothergill AW, McCarthy DI, Redding SW, Rinaldi MG, Patterson TF. Fluconazole disk diffusion susceptibility testing of *Candida* species. *J Clin Microbiol.* 1998 Nov;36(11):3429-32.
28. Barry AL, Pfaller MA, Rennie RP, Fuchs PC, Brown SD. Precision and accuracy of fluconazole susceptibility testing by broth microdilution, Etest, and disk diffusion methods. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002 Jun;46(6):1781-4.
29. Pfaller MA, Hazen KC, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ. Comparison of results of fluconazole disk diffusion testing for *Candida* species with results from a central reference laboratory in the ARTEMIS global antifungal surveillance program. *J Clin Microbiol.* 2004 Aug;42(8):3607-12.
30. Girmenia C, Tuccinardi C, Santilli S, Mondello F, Monaco M, Cassone A, Martino P. In vitro activity of fluconazole and voriconazole against isolates of *Candida albicans* from patients with haematological malignancies. *J Antimicrob Chemother.* 2000 Sep; 46(3):479-83.

---

Correspondência

**Everardo Albuquerque Menezes**  
*Rua Capitão Francisco Pedro 1210 – Rodolfo Teófilo*  
*60430-370 – Fortaleza, CE, Brasil*  
*menezes@ufc.br*

# Importância da qualidade da coleta do exame preventivo para o diagnóstico das neoplasias glandulares endocervicais e endometriais

## Importance of the sample collections quality in pap smear for diagnosis of glandular endocervical and endometrial cancers

<sup>1</sup>Sílvia Fischmann Osorio Ughini

<sup>2</sup>Luciane Noal Calli

### Resumo

**Objetivo:** As neoplasias glandulares endocervicais e endometriais são patologias preveníveis e curáveis quando precocemente detectadas. O exame citopatológico (Papanicolau) é um método muito utilizado para o rastreamento de neoplasias ginecológicas. A qualidade do exame citopatológico depende da adequação da amostra. Visando verificar a qualidade da coleta de amostras cérvico-vaginais em pacientes submetidas ao exame preventivo do câncer em Unidades do Sistema Único de Saúde (SUS) em Porto Alegre e região metropolitana, foram analisadas pacientes das unidades JARI (Viamão) e CPEG – Centro de Pesquisa Ginecológica (Porto Alegre). **Métodos:** Avaliaram-se informações retroativas registradas sobre as pacientes e as respectivas lâminas de material coletado para exame citopatológico. **Resultados:** Os resultados obtidos foram agrupados e analisados, sendo observada a ausência da junção escamo-columnar como o fator limitante mais frequente encontrado nos esfregaços citopatológicos cervicais e observada a diferença de adequabilidade da amostra entre as duas Unidades de Saúde ( $p < 0,001$ ). **Conclusão:** Constatou-se a necessidade de orientação aos profissionais que realizam a coleta.

### Palavras-chave

Esfregaço vaginal; Adenocarcinoma; Camada de esfregaço

## INTRODUÇÃO

O câncer caracteriza-se pelo crescimento descontrolado de células aberrantes, tornando-se fatal em consequência da invasão destrutiva dos órgãos normais por extensão direta e disseminação para locais distantes através do sangue, linfa ou superfícies serosas. Todos os tumores que invadem ou se metastizam exibem características específicas do tipo de neoplasia.<sup>(1)</sup>

Dentre as neoplasias invasoras primárias do colo, o adenocarcinoma corresponde ao segundo tipo histológico mais comum, sendo o carcinoma epidermoide a neoplasia predominante (aproximadamente 80% a 85% dos casos).<sup>(2)</sup>

O adenocarcinoma apresenta um pior prognóstico quando comparado ao carcinoma epidermoide, sendo que o aumento da sua prevalência está relacionado também ao emprego difundido de métodos diagnósticos, como o exame citopatológico, a colposcopia e a biópsia. Em amostras enviadas à citopatologia, geralmente são encontradas

poucas atipias em células glandulares, pois determinadas lesões neoplásicas não comprometem a mucosa endocervical superficial, mas as glândulas localizadas no estroma.<sup>(2)</sup>

O adenocarcinoma é responsável por 10%-25% dos casos e se origina de células colunares endocervicais. À medida que se torna menos diferenciado, pode perder sua aparência glandular e tornar-se mais sólido. Também tem sido associado à maior recorrência e maior número de linfonodos comprometido e pior prognóstico.<sup>(3)</sup>

A literatura relata uma maior frequência de adenocarcinoma endocervical em mulheres em torno de 50 anos de idade, baixo nível socioeconômico, com vários parceiros sexuais, com início de atividade sexual precoce, multiparas, tabagistas e com frequentes infecções do trato genital.<sup>(2)</sup>

O adenocarcinoma endometrial é uma neoplasia que acomete o tecido endometrial, promovendo proliferação anormal do epitélio e infiltração dos tecidos adjacentes.<sup>(4)</sup>

<sup>1</sup>Farmacêutica. Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS - Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>2</sup>Professora Adjunta de Análises Citológicas - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS - Porto Alegre, RS, Brasil.

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS – Porto Alegre, RS, Brasil.

Artigo recebido em 20/11/2015

Artigo aprovado em 19/02/2016

Apresenta-se, nos Estados Unidos (EUA), como a doença maligna mais frequente nos órgãos genitais femininos, com mais de 40 mil mulheres diagnosticadas anualmente, além de representar a quarta doença maligna mais frequente em mulheres no mesmo país.<sup>(5-8)</sup>

Existe uma diferença significativa na incidência de câncer endometrial entre diferentes países. Nos países europeus, nos EUA e Canadá, observam-se maiores incidências quando comparadas a países da África, Ásia e América Central.<sup>(8,9)</sup> Nas populações ocidentais, o câncer endometrial é o mais comumente encontrado em mulheres entre 50 e 65 anos, raramente acometendo abaixo de 40 anos.<sup>(8,9)</sup> Nos países europeus, a incidência de adenocarcinoma endometrial é de 10 a cada 100 mil mulheres, e de 25 a cada 100 mil habitantes nos EUA e Canadá. Na Venezuela, os tumores ginecológicos representaram 1,81% de todas as causas de morte no ano de 2004.<sup>(4)</sup> Em países com menor desenvolvimento socioeconômico, como é o caso do Brasil, o câncer de endométrio ocupa, por sua vez, a segunda colocação entre as causas de neoplasia maligna ginecológica, seguindo o câncer de colo uterino.<sup>(10)</sup>

O adenocarcinoma endometrial apresenta-se como um fator importante de morbidade e mortalidade entre mulheres no período pós-menopausa,<sup>(7)</sup> fator intimamente relacionado à terapia de reposição hormonal com o uso de estrogênios.<sup>(11)</sup> Pode-se relatar aumento do risco de desenvolvimento deste tipo de tumor com o aumento da dose e/ou tempo do uso da terapia; entretanto, também é observado em pacientes submetidas a esquemas terapêuticos mais brandos.<sup>(7)</sup> A menopausa tardia relaciona-se com um desequilíbrio entre níveis de estrogênios e progestágenos, estimulando a proliferação endometrial.<sup>(4)</sup> Também são relatados, como fatores de risco, a menarca precoce, o hábito de fumar, a obesidade,<sup>(4,7,12)</sup> o uso de tamoxifeno para tratamento de câncer de mama<sup>(4,13)</sup> e a nuliparidade.<sup>(4)</sup> Em geral, há manifestação de sangramento vaginal, sintoma que auxilia no diagnóstico precoce e facilita o estabelecimento da terapia.<sup>(1,7)</sup> A triagem de mulheres assintomáticas, e/ou que manifestem fatores de risco, poderá contribuir para o diagnóstico precoce do câncer de endométrio, condição imprescindível para o prognóstico da paciente, maximizando a chance de se detectar a doença em um estágio inicial.<sup>(7,12)</sup>

O teste de Papanicolau (PAP) é um exame rápido, de baixo custo e efetivo para a detecção precoce de neoplasias, mas vulnerável a erros de coleta, preparo das lâminas e interpretação.<sup>(14)</sup> Em um levantamento realizado dentro do sistema de saúde pública brasileiro, constatou-se que o PAP apresentou a melhor razão incremental de custo-efetividade entre todas as estratégias de rastreamentos analisadas.<sup>(14)</sup> Uma análise de custo-efetividade generalizada sobre intervenções preventivas de câncer cervical, realizada para triagem populacional mexicana,

também relatou a metodologia de PAP como apresentando menores custos em relação a outros manejos estudados.<sup>(15)</sup>

Um dos itens preconizados pelo Sistema Bethesda é o relato no laudo da adequação da amostra como importante componente para garantia da qualidade do esfregaço.<sup>(16)</sup> O fornecimento de informação sobre a presença significativa da Junção Escamo-Colunar (JEC), promove a qualidade dos espécimes, estimulando esforços para aperfeiçoar a colheita de material. Desta forma, há a necessidade de apresentar componentes da JEC (células endocervicais e/ou metaplásicas e células escamosas), para a amostra ser considerada satisfatória para a análise. Esta representatividade se dá pelo encontro de, no mínimo, dez células endocervicais ou metaplásicas e escamosas bem preservadas.<sup>(17)</sup>

A coleta adequada deve ser realizada com o auxílio de escova citológica, permitindo uma recuperação de células endocervicais em maior quantidade em relação à coleta com *swab* ou ainda com espátula de Ayre.<sup>(18)</sup>

A literatura refere que a maioria dos resultados falsos negativos obtidos na metodologia de PAP deve-se a erros na amostragem clínica, decorrendo de falha na obtenção de material adequado da área desejada.<sup>(18,19)</sup> Alguns estudos revelam erros entre 56% a 83% relacionados à amostragem clínica, nas quais a área patológica não foi contemplada na metodologia de PAP, sendo os demais erros relacionados a interpretações equivocadas, falsos positivos ou falsos negativos (Raab, 2004).<sup>(19)</sup>

A partir destes relatos, o presente estudo teve como objetivo verificar a qualidade da coleta de amostras cérvico-vaginais em pacientes submetidas ao exame preventivo do câncer em Unidades do Sistema Único de Saúde (SUS) em Porto Alegre e região metropolitana.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados prontuários das pacientes que frequentam Unidades Básicas de Saúde (UBS) do Jari, na cidade de Viamão (RS), e do Centro de Pesquisa Ginecológica (CPEG), no centro de Porto Alegre (RS). Os esfregaços que iriam para o descarte foram enviados ao laboratório da Faculdade de Farmácia da UFRGS e analisados novamente para a pesquisa de células representativas da junção escamo-colunar, endocervicais ou metaplásicas. Alguns dados dos prontuários foram analisados, como idade, estado civil, ocupação, escolaridade, cor da pele, fumo, dados sobre o ciclo menstrual, uso de reposição hormonal e terapia anticoncepcional hormonal, hábitos de vida sexual e histórico de patologias (câncer e doenças do trato genital feminino). A avaliação das amostras foi realizada conforme o Sistema Bethesda de classificação, 2001.

Como se trata de uma pesquisa em bancos de dados como fonte de informação obtida por procedimentos de rotinas na prática de serviços e em nenhum momento será solicitada alguma coleta em pacientes ou indivíduos saudáveis, segundo o Manual Operacional para Comitês de Ética em pesquisa – CONEP (Resolução N° 196/96 versão 2012), o presente estudo não necessita de TLCE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido). Este trabalho, portanto, tem o compromisso de respeitar as Normas e Diretrizes dessa resolução, garantindo a privacidade dos pacientes cujos isolados clínicos são provenientes quando depositados na coleção de cultura.

Os dados obtidos foram registrados em tabelas e analisados em programa Excel for Windows®, utilizando-se análise por teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ), com correção de Yates.

## RESULTADOS

Dentre as cem amostras coletadas na Unidade Básica de Saúde Jari, no período compreendido entre abril de 2008 e agosto de 2009, verificou-se que 89% das pacientes já haviam feito o exame preventivo de câncer. Entretanto, observou-se ausência de periodicidade para realizá-lo. Dentre as pacientes avaliadas, 11% nunca haviam realizado o referido exame.

A idade média das pacientes foi de 38,3 anos, sendo que a menarca foi verificada aos 12,7 anos em média. A maioria (67%) era casada, verificando-se, em média, 2,9 parceiros sexuais ao longo da vida. Os níveis escolares do grupo demonstraram predomínio de mulheres com o primeiro grau incompleto, conforme Tabela 1.

Quanto ao hábito de fumar, a maioria era não fumante (75%). Em relação aos dados consultados referentes à reposição hormonal, 44 mulheres não a realizavam e oito submetiam-se à terapia. Apenas três pacientes (3%) já haviam manifestado previamente algum tipo de doença neoplásica.

No levantamento realizado no CPEG com 67 pacientes, 100% destas haviam feito o exame preventivo de câncer anteriormente. Dentre as pacientes avaliadas, nenhuma havia apresentado algum tipo de doença neoplásica prévia. As pacientes tinham média de idade de 44,6 anos, sendo 26 pacientes casadas (38,8%), com 3,0 parceiros sexuais em média ao longo da vida.

Os níveis escolares do grupo demonstraram um predomínio de mulheres com o segundo grau completo, conforme Tabela 1.

Quanto ao hábito de fumar, constatou-se que 48 (71,6%) das pacientes não o possuíam; e, com relação à terapia de reposição hormonal, 52 mulheres não a realizavam e sete submetiam-se ao tratamento hormonal.

Tabela 1 - Percentual de níveis de escolaridade JARI/CPEG

Escolaridade	Jari Nº pacientes %	CPEG Nº pacientes %
Analfabetas	2	0
1º grau incompleto	47	26,9
1º grau completo	17	20,9
2º grau incompleto	8	0
2º grau completo	24	35,8
Ensino de nível técnico	0	1,49
3º grau incompleto	2	13,4
3º grau completo	0	1,49

Quanto à adequabilidade das amostras da unidade Jari (Tabela 2), 58 (58%) esfregaços foram classificados como satisfatórios, porém limitados para a análise, 38 (38%) foram considerados satisfatórios, com presença de células endocervicais e/ou células metaplásicas, e quatro (4%) foram considerados insatisfatórios.

Tabela 2 - Distribuição dos esfregaços citopatológicos de acordo com a adequabilidade da amostra - JARI/ CPEG

Adequabilidade da amostra	Jari %	CPEG %
Satisfatória	38	83,6
Satisfatória, porém limitada	58	16,4
Insatisfatória	04	0
Total	100	100

No estudo de 67 amostras coletadas no CPEG em Porto Alegre (RS), constatou-se, quanto à adequabilidade da amostra (Tabela 2), que 56 (83,6%) esfregaços apresentaram células endocervicais e/ou metaplásicas e 11 amostras (16,4%) foram classificadas como satisfatórias com ausência de células endocervicais e metaplásicas.

Na Tabela 3 observa-se que, no Jari, dentre os 58 esfregaços limitados para análise, 57 (98,3%) apresentaram ausência de células endocervicais e/ou metaplásicas (ausência de JEC) e um (1,7%) esfregaço foi considerado satisfatório com células endocervicais, porém hemorrágico.

Tabela 3 - Fatores limitantes que comprometem parcialmente a adequabilidade dos esfregaços - Jari

Fatores limitantes	n	%
Ausência da JEC	57	98,3
Esfregaço hemorrágico	01	1,7
Total de esfregaços com fatores limitantes	58	100

Dos cem esfregaços analisados, os quatro (4%) insatisfatórios foram desconsiderados para o resultado citológico.

A análise citopatológica dos 96 esfregaços constatou quarenta (41,7%) sem alterações citológicas, além de um (1,04%) hemorrágico também sem alterações. Foram verificados dois (2,08%) esfregaços atróficos e 11 (11,46%) apresentando atrofia com inflamação.

Detectou-se presença de células escamosas com alterações reativas inflamatórias em 41 esfregaços (42,71%), além de células escamosas com alterações reativas inflamatórias e paraceratose em um (1,04%) esfregaço.

A Tabela 4, disposta a seguir, demonstra os dados referentes aos resultados citopatológicos.

Foram obtidos 96 resultados negativos para malignidade no material examinado neste grupo de pacientes.

Tabela 4 - Distribuição dos resultados citopatológicos - Jari

Resultados citopatológicos	n	%
Atrofia	02	2,08
Atrofia com inflamação	11	11,46
Células escamosas com alterações reativas inflamatórias	41	42,71
Células escamosas com alterações reacionais inflamatórias e paraceratose	01	1,04
Sem alterações citológicas	40	41,7
Sem alterações e esfregaço hemorrágico	01	1,04
Total de esfregaços analisados	96	100

Em relação ao diagnóstico citopatológico no CPEG, foram encontrados 23 (34,33%) esfregaços sem alterações citopatológicas e 66,67% dos esfregaços com alterações inflamatórias, conforme Tabela 5.

Tabela 5. Distribuição dos resultados citopatológicos - CPEG

Resultados citopatológicos	n	%
Atrofia	3	4,48
Atrofia com inflamação	7	10,45
Células escamosas com alterações reativas inflamatórias	29	43,27
Alterações reacionais em células escamosas/metaplásicas	5	7,46
Sem alterações	23	34,33
Total de esfregaços analisados	67	100

Neste caso, foram obtidos 67 resultados considerados negativos para malignidade no material examinado neste grupo de pacientes.

Com relação à qualidade da colheita, os dados levantados caracterizam uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.001$ ) entre as unidades Jari e CPEG em relação à ausência de representação da JEC observada.

## DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que a ausência da JEC foi o fator limitante mais frequente encontrado nos esfregaços citopatológicos cervicais, 57% do total das amostras, da unidade Jari, constatando resultados negativos para malignidade em 100% das amostras neste posto. Estes resultados relativos à adequabilidade da amostra são compatíveis com os obtidos a partir de estudos realizados em 1993 por Nielsen et al.,<sup>(11)</sup> que relataram inadequabilidade da amostra obtida em 50% a 66% dos casos.

Em estudo realizado por Amaral et al., em 2006, foram encontradas 40,37% das amostras com ausência de JEC como fator limitante para a análise, além de 30% das amostras apresentarem-se limitadas por dessecação.<sup>(9)</sup> Outro estudo publicado em 2008, desenvolvido por Amaral et al., demonstrou a ausência de células metaplásicas e/ou endocervicais em 52,2% dos esfregaços, relatando análise comprometida por coleta insatisfatória.<sup>(20)</sup> Já no estudo realizado em 2008, por Ramos et al., foram encontrados 16,81% do total de esfregaços sem a JEC.<sup>(21)</sup>

Raab et al. analisaram a frequência de testes de PAP sem a representatividade da Zona de Transição na amostra coletada, resultando em 9,9% destes casos. Após a implantação de um sistema de maiores cuidados na colheita, esse índice percebeu uma diminuição para 4,74%. Neste estudo, uma melhor amostragem resultou em colheita integral da ectocérvice e endocérvice adjacentes à Zona de Transição.<sup>(19)</sup>

Um estudo publicado em 1998, com 62.234 amostras ginecológicas, utilizando metodologia de coloração por PAP e coleta com escova citológica, efetuou o levantamento da acurácia e de falsos positivos no diagnóstico de carcinoma endometrial. Foram identificados citologicamente 138 casos como adenocarcinoma endometrial, dos quais 126 amostras foram histologicamente confirmadas como patologia maligna.

Dentre os casos confirmados (126), 72 (57,1%) caracterizaram adenocarcinoma endometrial. Foram observados 8,7% de resultados falsos positivos, representando 12 casos dentre os 138 citologicamente identificados. O valor preditivo positivo (VPP) para o diagnóstico de carcinoma foi de 85,7%, e, para as condições benignas, de 99,9%. O grau de acurácia do diagnóstico de adenocarcinoma endometrial resultou em, aproximadamente, 70%.<sup>(22)</sup>

No levantamento ocorrido no CPEG, os resultados de esfregaços sem alterações foram de 34,33%, menor que o valor de 41,7% de esfregaços sem alterações observados na Unidade Jari. Este fato está possivelmente relacionado aos aspectos epidemiológicos das popula-

ções estudadas, visto que, na Unidade Jari, as pacientes apresentavam menores níveis de escolaridade.

As amostras do CPEG apresentaram apenas 16,4% dos esfregaços limitados por ausência de JEC, fator bastante divergente entre as duas unidades de saúde. Obteve-se um valor de  $p < 0.001$ , estatisticamente significativo para a diferença da presença de JEC nas amostras quando comparados os valores das duas unidades coletadas. Este resultado está possivelmente vinculado a divergências entre as coletas das duas unidades, provavelmente relacionado à capacitação dos profissionais envolvidos nesta atividade

Preocupados com este tema, já em 1999, estudo desenvolvido por Alves et al. comparou os procedimentos de coleta com uso da espátula de Ayre modificada, espátula de Ayre tradicional e a coleta com espátula de Ayre e escova citológica. Nesta análise, concluiu-se que a espátula de Ayre utilizada isoladamente é um método deficiente na produção de esfregaços satisfatórios. A espátula de Ayre modificada melhorou a qualidade da amostra em populações onde o uso de escova citológica não pode ser efetuado.<sup>(23)</sup> Os resultados demonstram que a coleta realizada com combinação de espátula de Ayre e escova citológica é a melhor metodologia para obtenção de esfregaços com apreciável número de células da endocervice.

A literatura relata como causa predominante dos resultados falsos negativos em exame citopatológico os erros na coleta do material, as falhas no escrutínio do esfregaço e na interpretação dos resultados citopatológicos para conclusão diagnóstica. Amaral et al., em 2008,<sup>(20)</sup> observaram 62% dos resultados falso negativos relacionados a erros na coleta do material. No referido estudo, os autores relataram a existência de esfregaços dessecados (22,8%), presença de sangue e/ou secreção purulenta (14,9%), além de presença de áreas espessas (9,5%), prejudicando a identificação de lesões citológicas. No levantamento realizado na Unidade Jari foram observados esfregaços hemorrágicos e purulentos, porém em pequeno número de casos, e na Unidade CPEG não foram observados tais fatores. Este fato se deveu, possivelmente a diferenças na qualidade da coleta e à sensibilidade das usuárias do serviço.

De acordo com Tajima et al.,<sup>(22)</sup> em estudo realizado em 1998, células de adenocarcinoma caracterizam-se por sobreposição de núcleos, presença de necrose, perda de polaridade e aumento do número e tamanho de nucléolos. Segundo Tajima, células com hiperplasia atípica apresentam uma distribuição irregular de cromatina em 30% do núcleo, enquanto que esta distribuição irregular ocorre em 80% das células de adenocarcinomas.<sup>(22)</sup> Entretanto, para realizar esta análise, é necessário que a coleta seja representativa da junção escamo-colunar, possibilitando

a avaliação das mesmas para o diagnóstico de adenocarcinoma.

A partir da observação de amostras obtidas com o auxílio de escova endocervical, Santos et al.,<sup>(24)</sup> em estudo publicado em 2009, comentam ser imprescindível o uso da escova endocervical para obtenção de amostra representativa. Relatam ainda o uso desta metodologia principalmente em mulheres com 40 anos ou mais, em vista do entrópico da JEC nesta faixa etária. A colheita nas unidades Jari e CPEG foi realizada com este instrumento de extrema importância para a adequabilidade da amostra, entretanto, no Jari, a ausência da JEC pode ser justificada por problemas no procedimento. De acordo com Carvalho et al.,<sup>(25)</sup> para obtenção de representatividade adequada, seria importante o uso da escova para coleta na JEC, para "varrer" as criptas localizadas no canal endocervical.

De acordo com análise publicada em 2007, após classificação da qualidade das lâminas, os autores observaram que os fatores relacionados ao processamento das mesmas, especialmente com relação à coleta da amostra a ser analisada, são mais críticos do que os relacionados com o acesso das mulheres ao exame preventivo do câncer. A ausência de células endocervicais foi um dos aspectos mais frequentes encontrados na referida análise, concluindo da importância da conscientização dos profissionais envolvidos no procedimento de coleta, através do treinamento de médicos e enfermeiras para o exame citopatológico.<sup>(26)</sup>

Na análise dos esfregaços coletados na unidade Jari, foram detectados 4% como insatisfatórios, sendo necessário repetir a coleta nestes casos. Segundo Ramos et al., "Isto, quando ocorre, é incômodo para a mulher, visto que onera o Sistema Único de Saúde com gastos desnecessários quando poderiam ser evitados com uma coleta adequada".<sup>(21)</sup>

Visto que as proliferações epiteliais próximas à JEC podem evoluir para adenocarcinoma e que, conforme estudo realizado por Amaral et al., em 2008, a JEC é a principal sede de lesões pré-neoplásicas, as células endocervicais e metaplásicas deverão sempre estar presentes nos esfregaços citopatológicos para o diagnóstico de adenocarcinomas endometriais e endocervicais.<sup>(27)</sup>

## CONCLUSÃO

A diferença na qualidade da colheita de material entre as duas unidades de saúde traz um alerta para possibilidade de erros diagnósticos das lesões ginecológicas e para a necessidade de instrução de profissionais envolvidos na coleta das amostras, visando à obtenção de material significativo, assegurando à paciente a

ausência de lesões precursoras de neoplasias endocervicais ou endometriais. O diagnóstico citopatológico, realizado através da coloração de Papanicolaou, conforme anteriormente descrito, é uma metodologia de baixo custo em relação a outros manejos estudados, útil para aplicação na triagem de pacientes para o diagnóstico de malignidades ginecológicas no Sistema Único de Saúde, gerando menores custos ao governo. Assim sendo, a diferença quanto à presença da JEC entre os locais avaliados caracteriza a necessidade de orientação e treinamento dos profissionais que realizam este procedimento, possibilitando diagnóstico precoce em mulheres assintomáticas ou com fatores de risco, pré-requisito de grande valor no prognóstico da paciente, e possibilitaria também, a detecção da doença nos seus estágios iniciais, melhorando a resposta terapêutica.

### Abstract

**Objective:** *The glandular endometrial and endocervical cancers are preventable and curable if early detected. The Pap smear is a widely used method for screening gynecological cancers. The quality of Pap smear depends on the sample's adequacy. In order to verify the quality of the collection of cervical smears in patients who had Pap cancer in units of the Unified Health System (SUS) in Porto Alegre and metropolitan area, patients were analyzed from JARI units (Viamão) and from CPEG- Center of Search Gynecological (Porto Alegre). **Methods:** Retroactive information recorded of the patients and their blades materials collected for cytological examination were evaluated. **Results:** The results were grouped and analyzed, noting the absence of squamocolumnar junction as the limiting factor most frequently found in cervical smears and sample's difference adequacy between the Health Units ( $p < 0,001$ ). **Conclusion:** It was realized about the need for guidance of professionals to collect the material.*

### Keywords

Vaginal smears; Adenocarcinoma; Smear layer

## REFERÊNCIAS

- Goldman L, Bennet JC. Cecil Tratado de Medicina Interna. 21a ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2001. 2668 p.
- Cambuzzi E, Zetler C, Pereira CAO. Adenocarcinoma endocervical em Porto Alegre e Região Metropolitana: Morfologia e Prevalência. *Revista AMRIGS*. 2005;49(1):27-33.
- Freitas F, Menke CH, Rivoire W, Pandolfi PE, Rotinas em Ginecologia. 5ª ed. Porto Alegre, Artmed, 2006.
- Perez R, Pontillo H, Urbistazu, J, Giménez M, Brancho G, Borges A. Epidemiología y factores de riesgo en pacientes con adenocarcinoma de endométrio. *Rev Venez Oncol*. 2007;19(4):313-20.
- Center for Disease Control and Prevention. Who gets uterine cancer? Disponível em <http://www.cdc.gov/cancer/uterine/index.htm>. Acesso em 12/10/2009.
- Lee CM, Szabo A, Shrieve DC, Macdonald OK, Tward JD, Skidmore TB, Gaffney DK. Descriptive nomograms of adjuvant radiotherapy use and patterns of care analysis for stage I and II endometrial adenocarcinoma: A surveillance, epidemiology, and end results population study. *Cancer*. 2007 Nov 1;110(9):2092-100.
- Montejo M, Werner TL, Gaffney D. Current challenges in clinical management of endometrial cancer. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009 Aug 10;61(10):883-9.
- Purdie DM, Green AC. Epidemiology of endometrial cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2001 Jun;15(3):341-54.
- Amaral RG, Ribeiro AA, Miranda FA, Tavares SBN, Souza NLA, Manrique EJC, et al. Fatores que podem comprometer a qualidade dos exames citopatológicos no rastreamento do câncer de colo de útero. *RBAC*. 2006;38(1):3-6.
- Chen MJ, Nishimoto IN, Soares PER, Pellizon ACA, Ferrignao R, Fogaroli RC, et al. Radioterapia adjuvante no tratamento do câncer de endométrio: experiência com a associação de radioterapia externa e braquiterapia de alta taxa de dose. *Radiologia Brasileira*. 2005;38(6):403-8.
- Nielsen ML, Davey DD, Leine TS. Specimen adequacy evaluation in gynecologic cytopathology: current laboratory practice in the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program and tentative guidelines for future practice. *Diagn Cytopathol*. 1993 Aug;9(4):394-403.
- Gouveia DA, Bahamondes L, Aldrighi JM, Tamanaha S, Ribeiro AL, Aoki T. Prevalência de Lesões Endometriais em Mulheres Obesas Assintomáticas. *Revista Associação de Medicina Brasileira*. 2007; 53(4):344-8.
- Aycart JIB, Pérez SI, Martín TR, Villaescusa IG, Andrade MCG. Sarcomas de Útero Después de Tratamiento con Tamoxifeno por Cáncer de mama. *Oncología*. 2005;27(7):38-42.
- Caetano R, Viana CMM, Thuler LCS, Girianelli VR. Custo-efetividade no Diagnóstico Precoce do Câncer de Colo Uterino no Brasil. *Revista de Saúde Coletiva Rio de Janeiro* 2006;16: 99-118.
- Gutiérrez-Delgado C, Báez-Mendoza C, González-Pier E, de la Rosa AP, Witlen R. Generalized cost-effectiveness of preventive interventions against cervical cancer in Mexican women: results of a Markov model from the public sector perspective. *Salud Publica Mex*. 2008 Mar-Apr;50(2):107-18. [Article in Spanish].
- Nai GA, De Souza KKG, Rodrigues ER, Barbosa RL. Presença de células da junção escamo-colunar em esfregaços cervicovaginais de mulheres acima de 40 anos. *RBGO*. 2011;33(3): 128-32.
- Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al; Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. *JAMA*. 2002 Apr 24;287(16):2114-9.
- Bauman BJ. Use of a cervical brush for Papanicolaou smear collection. A meta-analysis. *J Nurse Midwifery*. 1993 Sep-Oct;38(5):267-75.
- Raab SS, Andrew-Jaja C, Condel JL, Dabbs DJ. Improving Papanicolaou test quality and reducing medical errors by using Toyota production system methods. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Jan;194(1):57-64.
- Amaral RG, Manrique EJC, Guimaraes JV, Souza PJ, Mignoli JRQ, Xavier AP, Oliveira A. Influência da adequabilidade da amostra sobre a detecção das lesões precursoras do câncer cervical. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2008;30(11):556-60.
- Ramos NPD, Amorim JA, Lima CEQ. Câncer do colo do útero: influência da adequação da amostra cervical no resultado do exame citopatológico. *RBAC* 2008;40(3):215-8.
- Tajima M, Inamura M, Nakamura M, Sudo Y, Yamagishi K. The accuracy of endometrial cytology in the diagnosis of endometrial adenocarcinoma. *Cytopathology*. 1998 Dec;9(6): 369-80.
- Alves ALL, Almeida GM, Melo VH. Uso de uma espátula de Ayre modificada para colheita colpocitológica. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 1999;21(6):327-31.
- Santos ML, Moreno MS, Pereira VM. Exame de Papanicolaou: qualidade do esfregaço realizado por alunos de enfermagem. *Revista Brasileira de Cancerologia*. 2009;55(1):19-25.
- Carvalho NS, Collaço LM. O Tocoginecologista, o patologista e o exame de Papanicolaou. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2007;29(8): 383-6.

26. Feitosa TMP, Almeida RT. Perfil de produção do exame citopatológico para controle do câncer do colo do útero em Minas Gerais, Brasil, em 2002. Caderno de Saúde Pública. 2007;23(4): 907-17.
27. Montejo M, Werner TL, Gaffney D. Current challenges in clinical management of endometrial cancer. Adv Drug Deliv Rev. 2009 Aug 10;61(10):883-9.

---

Correspondência

**Sílvia Fischmann Osorio Ughini**  
Departamento de Análises Citológicas  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Avenida Ipiranga 2752 - Bairro Santana  
90610-000 – Porto Alegre, RS, Brasil  
luciane1011@gmail.com

## Perfil lipídico de pacientes pediátricos

### Lipid profile in pediatric patients

Marina R. M. Rover<sup>1</sup>

Emil Kupek<sup>2</sup>

Rita de C. B. Delgado<sup>3</sup>

Liliete C. Souza<sup>4</sup>

#### Resumo

Os objetivos deste trabalho são descrever a distribuição estratificada em percentis dos valores do perfil lipídico, por faixa etária e sexo, em crianças e adolescentes, e determinar se há diferenças em relação a estes valores, segundo sexo e faixa etária. Os critérios de inclusão foram: encaminhamento para a realização de exames de rotina; idade entre 2 e 19 anos e jejum de 12 horas. Foram excluídos os participantes que manifestavam quadro agudo de doença e aqueles com fatores que alteram os valores do perfil lipídico (*Diabetes mellitus* e hipotireoidismo, corticoides e estrógenos, desnutrição e obesidade). O Colesterol total (CT), o Colesterol constituinte da Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL-C), o Colesterol constituinte da Lipoproteína de Alta Densidade (HDL-C) e os Triglicérides (TG) foram determinados por métodos enzimáticos colorimétricos. Além destas determinações foi calculada a fração não-HDL-C e relações CT/HDL-C e LDL-C/HDL-C. No presente trabalho, uma distribuição representativa dos valores de lípidos específica por sexo e faixa etária para crianças e adolescentes foi proposta pela primeira vez em âmbito nacional. Os resultados desta pesquisa confirmam a necessidade de pontos de corte específicos, visto que foram observadas diferenças significativas entre os sexos e entre as faixas etárias na maior parte das determinações do perfil lipídico (HDL-C, da relação CT/HDL-C, da relação LDL-C/HDL-C e do não-HDL-C). Os resultados deste estudo podem ser úteis para definir padrões nacionais próprios, para medir o progresso na saúde das crianças e adolescentes no futuro e para o planejamento de programas de prevenção das doenças cardiovasculares.

#### Palavras-chave

Perfil lipídico, Crianças, adolescentes

## INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (CVD), como a aterosclerose, estão entre as maiores causas de morbidade e mortalidade de adultos em todo o mundo.<sup>(1,2)</sup> Em geral, as manifestações clínicas da doença arterial coronariana (CAD), têm início a partir da meia idade, no entanto, estudos demonstraram que o processo aterosclerótico inicia-se na infância.<sup>(3)</sup> Alguns trabalhos encontraram estrias gordurosas na aorta de crianças a partir de 3 anos de idade.<sup>(3,4)</sup>

A dislipidemia é um dos fatores de risco de maior impacto na aterogênese. Há descrições de que os valores de colesterol das crianças coincidem com a prevalência de CAD nos adultos de sua região ou país, guardando relação direta entre si; sabe-se também que as frações lipídicas tendem a seguir o fenômeno de *tracking*, isto é,

a maioria das crianças se mantém com os mesmos percentis em relação aos lípidos até a vida adulta.<sup>(6,7)</sup>

Os intervalos de referência para lípidos e lipoproteínas são utilizados para identificar pessoas com alto risco para desenvolver CVD em comparação com pessoas do mesmo sexo e idade com valores baixos de lípidos.<sup>(8)</sup> Entretanto, não há consenso sobre os pontos de corte para definir as dislipidemias na infância. Para a caracterização das dislipidemias, a maioria dos países utiliza os valores de referência procedentes do *National Heart, Lung and Blood Institute* (NHLBI).<sup>(9)</sup> No Brasil, muitos autores adotam os valores recomendados pela V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (V DBSD),<sup>(10)</sup> além daqueles definidos pelo NHLBI.<sup>(9)</sup>

Os intervalos de referência transcritos de outros países desconsideram diferenças étnicas, socioeconômicas

<sup>1</sup>Mestre em Farmácia, Farmacêutica da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – Florianópolis, SC, Brasil.

<sup>2</sup>Doutor em Saúde Pública, Professor, Departamento de Saúde Pública, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – Florianópolis, SC, Brasil.

<sup>3</sup>Farmacêutica, Mestre em Farmácia, Depto. de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – Florianópolis, SC, Brasil.

<sup>4</sup>Doutora em Farmácia. Professora, Departamento de Análises Clínicas, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – Florianópolis, SC, Brasil.

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – Florianópolis, SC, Brasil.

Artigo recebido em 20/02/2012

Artigo aprovado em 19/02/2016

micas e hábitos alimentares da população. O resultado final pode ser um número excessivo de decisões incorretas, levando ao aumento de custos médicos, investigações desnecessárias e riscos para a saúde dos pacientes.<sup>(11)</sup>

Estudos nacionais, realizados em municípios do estado de São Paulo, observaram que os intervalos de referência da amostra estudada diferem dos recomendados pelas diretrizes.<sup>(12,13)</sup> Esse fato ressalta a necessidade de se realizarem estudos semelhantes em outras regiões para se obter padronização brasileira dos intervalos de referência para triglicérides (TG), colesterol total (CT) e frações.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi descrever a distribuição em percentis dos valores do perfil lipídico: CT, Colesterol LDL (LDL-C), Colesterol HDL (HDL-C), TG, não-HDL-C, relação CT/HDL-C e relação LDL-C/HDL-C, por faixa etária e sexo, em crianças e adolescentes entre 2 e 19 anos de idade e determinar se há diferenças em relação aos valores do perfil lipídico, segundo sexo e faixa etária.

## MATERIAL E MÉTODOS

No ano de 2006, foram estudadas 1.011 crianças e adolescentes de ambos os sexos, em laboratório de análises clínicas acreditado pelo Programa de Excelência para Laboratórios Médicos da Control Lab e pelo Programa Nacional de Controle de Qualidade Ltda da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas.

Os critérios de inclusão na pesquisa foram: encaminhamento ao laboratório para a realização de exames de rotina; idade entre 2 e 19 anos e jejum de 12 horas. Foram excluídos os participantes que manifestavam quadro agudo de doença.

Foi utilizado um questionário contemplando variáveis biológicas e sociais, que caracterizavam a amostra, entre elas: histórico familiar de CAD em parentes de primeiro grau;<sup>(14)</sup> tabagismo; idade gestacional ao nascimento (prematuros com idade gestacional, ao nascimento, menor que 37 semanas;<sup>(15)</sup> ocorrência de alterações metabólicas; e uso de medicamentos.

Foram aferidos peso e estatura para obtenção do *body mass index* (BMI), considerando-se desnutrido se < que o percentil 5; eutrófico se > que o percentil 5 e que o 85; sobrepeso se  $\geq$  que o percentil 85 ou obeso se  $\geq$  que o percentil 95 para idade e sexo, segundo critério do *Center for Disease Control and Prevention* (CDC).<sup>(16)</sup>

Para determinar a distribuição dos percentis dos valores do perfil lipídico, foram utilizados os critérios de exclusão dos participantes com o objetivo de eliminar aqueles com fatores que sabidamente poderiam alterar os valores do perfil lipídico. Desta forma, foram excluídos

os participantes que apresentavam ao menos um dos seguintes fatores: *Diabetes mellitus*; hipotireoidismo; doenças renais; hepatopatias; AIDS; hipertensão; gravidez; uso de medicamentos como tiazídicos, betabloqueadores, corticoides, estrógenos e hormônio de crescimento; desnutrição ou obesidade e prematuridade. Também foram excluídos os sabidamente dislipidêmicos (de acordo com o NHLBI)<sup>(9)</sup> e aqueles em que não foi possível a determinação do BMI.<sup>(10,11,17,18)</sup> Ainda, para a distribuição percentil, a amostra em estudo foi distribuída em faixas etárias: 2 a 5 anos; 6 a 9 anos; 10 a 14 anos e 15 a 19 anos, e agrupadas, segundo o sexo, com base nas características de desenvolvimento e seguindo os principais referis nessa área.<sup>(8,19-21)</sup>

As determinações de CT [coeficiente de variação analítico (CVa): 2,6%] e TG [(CVa): 4,9%] foram realizadas por método enzimático colorimétrico em autoanalisador (Roche® modelo COBAS MIRA). Para o HDL-C, a amostra passou por um pré-tratamento de precipitação por fosfotungstato de magnésio e, posteriormente, a determinação do HDL-C [(CVa): 5,1%] no sobrenadante foi feita com o mesmo método enzimático colorimétrico. O LDL-C foi calculado pela fórmula de Friedewald. Além dessas determinações, foram calculadas a fração não-HDL-C<sup>(22)</sup> e as relações CT/HDL-C e LDL-C/HDL-C.<sup>(23)</sup>

Os cuidados relacionados à fase pré-analítica seguiram as orientações da IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose.<sup>(24)</sup>

Os dados obtidos durante a pesquisa foram plotados em planilhas desenvolvidas com o programa estatístico EpiData® 3.0. A análise dos dados coletados foi realizada pelo programa estatístico Stata® 9.0. Determinou-se a distribuição dos percentis 5, 10, 25, 50, 75, 90, 95 dos valores do perfil lipídico conforme o sexo e a faixa etária para os participantes incluídos. Foram comparados os valores de TC, LDL-C, HDL-C, TG, relação TC/HDL-C, relação LDL-C/HDL-C e não-HDL-C, por sexo e faixa etária, utilizando o teste não paramétrico de Qui-quadrado de Pearson e os intervalos de confiança 95%.

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, obtendo o parecer favorável no mês de junho do ano de 2005 (Projeto 095/05). Após esclarecimentos sobre a pesquisa, todos os pais ou responsáveis legais pelas crianças e adolescentes assinaram o consentimento escrito de adesão ao estudo.

## RESULTADOS

Para a determinação da distribuição percentil dos valores do perfil lipídico, foram excluídos participantes que possuíssem algum fator que poderia influenciar os seus valores lipídicos, sendo assim, foram excluídos: 106 por

apresentarem patologias que provocam alterações no metabolismo basal; 5 por serem gestantes; 27 por utilizarem medicamento que provoca alteração em seus valores lipídicos; 27 por terem nascido prematuros; 130 por serem considerados desnutridos (BMI < 5), 95 por serem considerados obesos (BMI > 95), 20 por terem diagnóstico e estarem em tratamento de algum tipo de dislipidemia e 34 por não terem os dados referentes ao BMI.

O número de participantes, por faixa etária e por sexo, as respectivas médias e a distribuição percentil para cada variável analisada: CT, LDL-C, HDL-C, TG, relação TC/HDL-C, relação LDL-C/HDL-C e não-HDL-C, para os 567 participantes incluídos estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3 a seguir. O número total de amostras

difere entre as variáveis analisadas porque, para alguns participantes, não foi possível a realização de todos os ensaios.

Na avaliação deste grupo de participantes foram encontradas diferenças significativas entre os sexos masculino e feminino para as determinações do HDL-C (nas faixas etárias dos 10 aos 14 anos e dos 15 aos 19 anos) (p= 0,050), bem como da relação CT/HDL-C (dos 10 aos 14 anos) (p= 0,007) e da relação LDL-C/HDL-C (dos 10 aos 14 anos) (p= 0,003) e do não-HDL-C (dos 6 aos 9 anos) (p= 0,047) e marginalmente significativas do LDL-C (dos 10 aos 14 anos) (p= 0,067).

As diferenças significativas entre as faixas etárias, segundo o sexo, são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 1 - Distribuição Percentil dos Valores de CT, LDL-C, HDL-C e TG (mg/dl) por faixa etária e sexo

Valores do Perfil Lipídico - Sexo Masculino																
Percentil/ Faixa etária	CT				LDL-C				HDL-C				TG			
	2-5	6-9	10-14	15-19	2-5	6-9	10-14	15-19	2-5	6-9	10-14	15-19	2-5	6-9	10-14	15-19
5	113	121	117	104	44	67	55	44	30	33	34	31	34	34	40	30
10	121	138	125	105	62	75	59	58	34	34	36	32	42	38	44	36
25	144	146	142	128	81	87	72	63	39	40	43	36	51	54	52	42
50	168	161	154	141	100	99	86	90	46	47	51	45	75	66	70	59
75	182	180	170	160	120	114	103	99	54	55	58	52	98	84	104	88
90	199	194	183	173	141	132	111	110	60	62	66	55	132	110	132	102
95	208	212	194	175	150	156	116	122	62	68	72	56	143	130	147	128

Valores do Perfil Lipídico - Sexo Feminino																
Percentil/ Faixa etária	CT				LDL-C				HDL-C				TG			
	2-5	6-9	10-14	15-19	2-5	6-9	10-14	15-19	2-5	6-9	10-14	15-19	2-5	6-9	10-14	15-19
5	125	124	113	119	65	61	50	61	30	35	34	35	40	40	36	36
10	131	135	126	124	73	65	60	72	30	37	36	40	45	45	45	44
25	144	144	140	142	83	81	79	76	36	43	38	46	54	52	56	56
50	160	159	160	154	100	97	97	92	44	49	46	51	70	66	72	68
75	180	180	179	172	120	112	111	112	50	58	54	56	90	87	106	80
90	205	188	198	207	145	126	123	123	57	64	62	62	117	119	148	141
95	220	200	206	239	160	131	131	137	61	65	66	71	147	126	184	178

Tabela 2 - Distribuição Percentil dos Valores de CT/HDL-C, LDL-C/HDL-C e fração não-HDL-C (mg/dl) por faixa etária e sexo

Valores do Perfil Lipídico - Sexo Masculino												
Percentil/Faixa etária	CT/HDL-C				LDL-C/HDL-C				não-HDL-C			
	2-5	6-9	10-14	15-19	2-5	6-9	10-14	15-19	2-5	6-9	10-14	15-19
5	1,9	2,3	2,1	2,2	0,7	1,1	0,9	1,0	56	74	68	61
10	2,3	2,5	2,2	2,4	1,2	1,3	1,0	1,1	69	88	75	66
25	3,0	3,0	2,5	2,9	1,8	1,8	1,4	1,5	96	99	88	78
50	3,5	3,4	3,0	3,2	2,2	2,2	1,7	1,9	120	113	102	102
75	4,3	3,9	3,4	3,9	2,9	2,5	2,1	2,6	137	130	117	112
90	4,9	4,8	4,1	4,7	3,4	3,3	2,6	3,0	156	144	131	129
95	5,5	5,1	4,7	5,0	3,8	3,7	3,2	3,4	173	164	141	142

Valores do Perfil Lipídico - Sexo Feminino												
Percentil/Faixa etária	CT/HDL-C				LDL-C/HDL-C				não-HDL-C			
	2-5	6-9	10-14	15-19	2-5	6-9	10-14	15-19	2-5	6-9	10-14	15-19
5	2,4	2,2	2,2	2,2	1,2	1,0	1,0	1,0	76	74	68	70
10	2,6	2,3	2,5	2,4	1,3	1,2	1,2	1,2	87	79	76	83
25	3,0	2,8	2,9	2,8	1,7	1,6	1,6	1,5	101	95	96	90
50	3,7	3,2	3,4	3,2	2,4	2,0	2,1	2,0	115	112	112	104
75	4,5	3,8	3,8	3,5	3,2	2,5	2,4	2,2	135	130	132	126
90	5,3	4,5	4,5	3,9	3,9	2,9	3,0	2,4	160	145	140	152
95	5,7	4,7	5,1	4,0	4,1	3,4	3,4	2,8	173	151	155	173

Tabela 3 - Médias dos valores de CT, LDL-COL, HDL-COL, TG, CT/HDL-COL, LDL-COL/HDL-COL e fração não-HDL-COL (mg/dl) e número de participantes por faixa etária e sexo

Valores do Perfil Lipídico - Sexo Masculino														
Faixa etária	CT		LDL-C		HDL-C		TG		CT/HDL-C		LDL-C/HDL-C		não-HDL-C	
	N	Média	N	Média	N	Média	N	Média	N	Média	N	Média	N	Média
2-5	79	164	79	101	79	46	79	80	79	3,6	79	2,3	79	117
6-9	91	164	89	101	90	48	89	71	90	3,5	89	2,2	90	115
10-14	83	155	83	86	83	52	83	85	83	3,1	83	1,8	83	103
15-19	23	143	23	85	23	44	23	71	23	3,3	23	2,0	23	100

Valores do Perfil Lipídico - Sexo Feminino														
Faixa etária	CT		LDL-C		HDL-C		TG		CT/HDL-C		LDL-C/HDL-C		não-HDL-C	
	N	Média	N	Média	N	Média	N	Média	N	Média	N	Média	N	Média
2-5	84	165	83	105	83	44	84	76	83	3,9	83	2,5	83	120
6-9	107	162	106	97	106	50	106	74	106	3,3	106	2,0	106	112
10-14	80	160	80	95	80	48	80	86	80	3,4	80	2,1	80	112
15-19	20	162	20	95	20	51	20	77	20	3,2	20	1,9	20	110

Tabela 4 - Valores de "p" significativos para as diferenças entre as faixas etárias, segundo o sexo

Faixa etária	Feminino			Masculino			
	2-5	6-9	10-14	2-5	6-9	10-14	
6-9	HDL-C	p= 0,008					
	CT/HDL-C	p= 0,001	-	-	-	-	
	LDL-C/HDL-C	p= 0,002					
10-14	CT/HDL-C	p= 0,028		LDL-C	p= 0,003	LDL-C	p= 0,002
	LDL-C/HDL-C	p= 0,010		HDL-C	p= 0,035	CT/HDL-C	p= 0,049
				CT/HDL-C	p= 0,003	LDL-C/HDL-C	p= 0,003
				LDL-C/HDL-C	p= 0,000		
				ñ-HDL-C	p= 0,013	ñ-HDL-C	p= 0,037
15-19	CT/HDL-C	p= 0,025	-	CT	p= 0,019	CT	p= 0,017
	LDL-C/HDL-C	p= 0,027	-	ñ-HDL-C	p= 0,053	HDL-C	p= 0,029

## DISCUSSÃO

Os valores de referência para lípidos e lipoproteínas para a faixa etária pediátrica mais utilizados são aqueles recomendados pela NHLBI.<sup>(9)</sup> Esses pontos de corte foram determinados com base no *Lipid Research Clinics-Prevalence Study*, desenvolvido nos Estados Unidos da América para determinar a distribuição dos valores lipídicos na população infantil e sugerir critérios de normalidade para as frações lipídicas.<sup>(6)</sup> Os resultados obtidos nesse estudo com valores menores que o percentil 75 foram considerados desejáveis para CT e LDL-C; iguais ou maiores que o percentil 75 e menores que o 95 foram considerados limítrofes para CT e LDL-C; valores iguais ou maiores que o percentil 95 foram considerados elevados para TG, CT e LDL-C; e valores iguais ou menores que o percentil 5 foram considerados baixos para HDL-C e válidos para crianças e adolescentes de 2 a 19 anos, de ambos os sexos.<sup>(9)</sup>

O fato do laboratório escolhido para a realização deste estudo atender os encaminhamentos do ambulatório do maior hospital infantil da região, procurado principalmente por crianças e adolescentes até os 14 anos, pode estar relacionado com o pequeno número de pacientes na faixa etária entre os 15 e 19 anos. Neste contexto, também pode ser considerada a possibilidade dos indivíduos desta faixa etária não manterem o hábito de procurar atendimento médico para exames de rotina.

Comparando-se os resultados encontrados no presente estudo com os obtidos no *Lipid Research Clinics-Prevalence Study*<sup>(8)</sup> foram observados, em geral, valores menores para as determinações de CT, LDL-C e HDL-C e maiores para os de TG. Para as relações CT/HDL-C e LDL-C/HDL-C, os valores encontrados foram, em geral, maiores, comparados aos observados no estudo de Elcarte et al.<sup>(23)</sup> E para o não-HDL-C, os valores encontrados foram

menores que aqueles obtidos no *The Bogalusa Heart Study*.<sup>(22)</sup>

Diferenças significativas foram observadas entre os sexos masculino e feminino para as determinações do HDL-C (nas faixas etárias dos 10 aos 14 anos e dos 15 aos 19 anos) ( $p= 0,050$ ), da relação CT/HDL-C (dos 10 aos 14 anos) ( $p= 0,007$ ), na relação LDL-C/HDL-C (dos 10 aos 14 anos) ( $p= 0,003$ ) e no não-HDL-C (dos 6 aos 9 anos) ( $p= 0,047$ ) e marginalmente significativas do LDL-C (dos 10 aos 14 anos) ( $p= 0,067$ ). Em geral, o sexo feminino teve maiores valores de LDL-C, relação CT/HDL-C e relação LDL-C/HDL-C do que o masculino; outros estudos também observaram esta tendência.<sup>(12,22,25)</sup>

As maiores médias de CT foram observadas para as faixas etárias dos 2 aos 9 anos, semelhantes ao observado por Moura et al.<sup>(12)</sup> Para o TG, a média mais alta foi observada nas crianças e adolescentes dos 10 aos 14 anos. Observaram-se valores maiores de HDL-C no sexo masculino na faixa etária dos 10 aos 14 anos, e no sexo feminino dos 15 aos 19 anos. Como no estudo de Moura et al.,<sup>(12)</sup> os maiores valores para as relações CT/HDL-C e LDL-C/HDL-C foram observados na faixa etária dos 2 aos 5 anos. A idade foi inversamente relacionada com ambos, não-HDL-C e LDL-C, como encontrado no estudo de Srinivasan et al.<sup>(22)</sup>

Deve-se considerar que os valores de referência propostos pela NHLBI<sup>(9)</sup> não levam em conta os efeitos da puberdade nos valores lipídicos. Visto que a distribuição dos lípidos muda durante a adolescência, diferentes proporções de adolescentes de ambos os sexos são identificados para o acompanhamento e tratamento baseados nesse único ponto de corte, dependendo da idade em que eles foram avaliados.<sup>(20)</sup> Segundo Friedman et al.,<sup>(21)</sup> a sensibilidade e a especificidade dos pontos de corte propostos pela NHLBI<sup>(9)</sup> para prever as alterações dos valores lipídicos, quando adultos, e as CVD, dependem da

idade em que a determinação dos lípidos foi feita. Essa marcante variação de sensibilidade que ocorre com a idade sugere outra limitação das diretrizes brasileiras atuais. Alguns autores têm recomendado a utilização de um critério específico por idade e sexo que, embora mais complexos, têm precedente, incluindo os critérios para pressão arterial específicos por sexo, idade e estatura.<sup>(19,20,21,26,27)</sup>

## CONCLUSÃO

No presente trabalho, uma distribuição representativa dos valores de lípidos específica por sexo e faixa etária para crianças e adolescentes entre 2 e 19 anos foi proposta pela primeira vez em âmbito nacional. Além disso, destacaram-se as diferenças encontradas segundo o sexo e as faixas etárias corroborando com outros autores sobre a necessidade da determinação de valores de referência para crianças e adolescentes específicos por sexo e faixa etária. Desta forma, estes dados podem ser úteis para definir padrões nacionais próprios, para medir o progresso na saúde das crianças e adolescentes no futuro e para o planejamento e implemento de programas de prevenção das CVD.

### Abstract

*The objectives of this study is to describe the stratified percentile distribution of the lipid profile values by age group and sex, in children and adolescents and determine whether there are differences with respect to these values, according to sex and age group. Inclusion criteria included: approval to conduct routine tests; aged 2 to 19 years and fasting for 12 hours. Participants who expressed acute disease and those with factors that alter the values of the lipid profile were excluded (Diabetes mellitus and hypothyroidism, corticosteroids and estrogens, malnutrition and obesity). Total Cholesterol (TC) Low Density Lipoprotein Cholesterol (LDL-C) High Density Lipoprotein Cholesterol (HDL-C) and Triglycerides (TG) were determined by enzymatic colorimetric methods. It was also calculated the fraction of non-HDL-C, TC/HDL-C and LDL-C/HDL-C ratios. In this study, a representative distribution of specific lipid values by sex and age group for children and adolescents was first proposed at national level. These results confirm the need for specific cutoff points, as significant differences were observed between the sexes and between age groups in most measurements of the lipid profile (HDL-C, the TC/HDL-C and LDL-C/HDL-C ratios and non-HDL-C). The results of this study may be useful to set national standards, to evaluate the health of children and adolescents in the future and to support the planning for programs to prevent cardiovascular diseases.*

### Keywords

*Lipid profile; Children; Adolescents*

## REFERÊNCIAS

- Reddy KS. Cardiovascular diseases in the developing countries: dimensions, determinants, dynamics and directions for public health actions. *Publ Health Nutr.* 2002 Feb;5(1A):231-7.
- Levi F, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Trends in mortality from cardiovascular and cerebrovascular diseases in Europe and other areas of the world. *Heart.* 2002 Aug;88(2):119-24.
- McGill HC Jr, McMahan CA, Zieske AW, Tracy RE, Malcom GT, Herderick EE, Strong JP. Association of Coronary Heart Disease Risk Factors with microscopic qualities of coronary atherosclerosis in youth. *Circulation.* 2000 Jul 25;102(4):374-9.
- Berenson GS, Wattigney WA, Tracy RE, Newman WP 3rd, Srinivasan SR, Webber LS. Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (the Bogalusa Heart Study). *Am J Cardiol.* 1992 Oct 1;70(9):851-8.
- Tracy RE, Newman WP 3rd, Wattigney WA, Berenson GS. Risk factors and atherosclerosis in youth autopsy findings of Bogalusa Heart Study. *Am J Med Sci.* 1995 Dec;310 Suppl 1: S37-41.
- Lauer RM, Lee J, Clarke WR. Factors affecting the relationship between childhood and adult cholesterol levels: the Muscatine Study. *Pediatrics.* 1988;82(3):309-18.
- Porkka KV, Viikari JS, Taimela S, Dahl M, Akerblom HK. Tracking and predictiveness of serum lipid and lipoprotein measurements in childhood: a 12-year follow-up: The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Am J Epidemiol.* 1994 Dec 15;140(12):1096-110.
- Rifkin BM, Segal P. Lipid Research Clinics Program reference values for hyperlipidemia and hypolipidemia. *JAMA.* 1983 Oct 14;250(14):1869-7.
- National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI) - Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: Summary report. *Pediatrics.* 2011; 128:213-56.
- Sociedade Brasileira de Cardiologia, Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito, et al. V Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Prevention of Atherosclerosis. *Arq Bras Cardiol.* 2013 Oct;101(4 Suppl 1):1-20. [Article in Portuguese].
- Horn PS, Pesce AJ. Reference intervals: an update. *Clin Chim Acta.* 2003 Aug;334(1-2):5-23.
- Moura EC, Castro CM, Mellin AS, Figueiredo DB. Perfil lipídico em escolares de Campinas, SP, Brasil. *Rev Saúde Pública.* 2000;34 (5):499-505.
- Seki M, Niyama FP, Seki MO, Junior PGP, Bonametti AM, Matsuo T, Carrilho AJF. Perfil lipídico: intervalos de referência em escolares de 2 a 9 anos de idade da cidade de Maracá (SP). *J Bras Patol Med Lab.* 2003;39(2):131-37.
- Bao W, Srinivasan SR, Valdez R, Greenlund KJ, Wattigney WA, Berenson GS. Longitudinal changes in cardiovascular risk from childhood to young adulthood in offspring of parents with coronary artery disease. The Bogalusa Heart Study. *JAMA.* 1997 Dec 3;278(21):1749-54.
- Barker DJ. Coronary heart disease: a disorder of growth. *Horm Res.* 2003;59 Suppl 1:35-41.
- Center for Disease Control and Prevention. National Center for Health Statistics (USA). 2000 CDC Growth Charts: United States [on-line]. Hyattsville (MA). <http://www.cdc.gov/growthcharts/>. Acesso: 10/11/2015.
- Quintão E. Colesterol e Aterosclerose. Rio de Janeiro, Editora Qualitymark, 1992.
- Sasse EA, Dumas BD, Miller WG, et al. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; Approved Guideline - Second Edition. NCCLS document C28-A2 (ISBN 1-56238-406-6),20(13), 2000. Disponível em: <<http://www.nccls.org>>. Acesso em: 10 dez. 2007.
- Labarthe DR, Dai S, Fulton JE. Cholesterol screening in children: insights from Project Heart Beat! And Nhanes III. *Progress Ped Cardiol.* 2003;17:169-78.
- Morrison JA. A longitudinal evaluation of the NCEP-Peds guidelines for elevated total and LDL cholesterol in adolescent girls and boys. *Progress Ped Cardiol.* 2003;17:159-68.

21. Friedman LA, Morrison JA, Daniels SR, McCarthy WF, Sprecher DL Sensitivity and specificity of pediatric lipid determinations for adult lipid status: findings from the Princeton Lipid Research Clinics Prevalence Program follow-up study. *Pediatrics*. 2006; 118(1):165-68.
22. Srinivasan SR, Myers L, Berenson GS. Distribution and correlates of non-high-density lipoprotein cholesterol in children: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics*. 2002 Sep;110(3):e29.
23. Elcarte López R, Villa Elizaga I, Sada Goñi J, Gasco Eguluz M, Oyarzábal Irigoyen M, Sola Mateos A, et al. A study from Navarra. Hyperlipidemia V. What is the best definition of hyperlipemia in childhood and adolescence? *An Esp Pediatr*. 1993 Apr;38(4): 317-22. [Article in Spanish].
24. Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FAH, Bertolami MC. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol*. 2007;88(Supl 1):2-19.
25. Giuliano ICB, Coutinho MSSA, Freitas SFT, Pires MMS, Zunino JN, Ribeiro RQC. Lípidos séricos em crianças e adolescentes de Florianópolis, SC. Estudo Floripa Saudável 2040. *Arq Bras Cardiol*. 2005;85(2):85-91.
26. National High Blood Pressure Education Program. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents, 2005. Disponível em: <<http://www.nhlbi.nih.gov>>. Acesso em: 9 set. 2007.
27. Daniels SR, Greer FR; Committee on Nutrition. Lipid screening and cardiovascular health in childhood. *Pediatrics*. 2008 Jul;122(1):198-208.

---

Correspondência

**Marina Raijche Mattozo Rover**  
Rua das Camélias, 188 - Carvoeira  
88040-530 – Florianópolis, SC, Brasil  
[marinarover@yahoo.com.br](mailto:marinarover@yahoo.com.br)

# Análise microbiológica de polpas de açaí comercializadas na cidade de São Paulo

## Microbiological analysis of the acai berry products marketed in the city of São Paulo

Bárbara Araújo dos Santos<sup>1</sup>

Maria Cristina Meireles Campofiorito<sup>2</sup>

Jorge Luiz Freire Pinto<sup>3</sup>

Sandra Heloisa Nunes Whitaker Penteadó<sup>4</sup>

Fernando Luiz Affonso Fonseca<sup>5</sup>

Flávia de Sousa Gehrke<sup>6</sup>

### Resumo

**Objetivo:** O açaí é considerado um alimento com alto valor energético, o que desperta o interesse deste fruto pela indústria nacional e internacional. Sua polpa é utilizada para produção de sucos, sorvetes, mix de frutas e consumido *in natura*. As propriedades antioxidantes do açaí o incluem no grupo de alimentos funcionais prevenindo doenças que estão relacionadas ao estresse oxidativo. As doenças transmitidas por alimentos são causadas por água ou alimentos contaminados em qualquer uma das fases da sua preparação ou comercialização. O objetivo deste trabalho foi verificar a presença de micro-organismos patogênicos no açaí comercializado em diversos pontos de alta incidência populacional na cidade de São Paulo. **Métodos:** As amostras coletadas foram inoculadas em meios de cultura enriquecido e seletivo. Após análise macro e microscópica das colônias, as mesmas foram analisadas quanto às suas características bioquímicas. **Resultados:** Em 50% das amostras foram detectadas bactérias do gênero *Staphylococcus* sp., *Enterobacter* sp. (25%), *Serratia* sp. (15%) e *Escherichia coli* (10%), sendo que em algumas das amostras teve o crescimento de mais de uma espécie bacteriana. **Conclusão:** Duas destas espécies bacterianas são classificadas como coliformes fecais e, portanto, podem causar enfermidades transmitidas por alimentos, tornando estes produtos impróprios para consumo. Bactérias do gênero *Staphylococcus* sp. são notadamente conhecidas como agentes de doenças transmitidas por alimentos, causando vários danos à saúde individual e pública. *Serratia* sp. é um agente de infecção nosocomial, de trato urinário e infecções intestinais e intoxicação alimentar. Medidas preventivas e fiscalizadoras devem ser reforçadas no sentido de se evitarem potenciais riscos aos quais os indivíduos estão expostos diariamente.

### Palavras-chave

Doenças transmitidas por alimentos; *Escherichia coli*; *Enterobacter* sp.; *Serratia* sp.; *Staphylococcus* sp.

## INTRODUÇÃO

O açazeiro (*Euterpe oleracea Mart*) é uma palmeira que pertence à família *Arecaceae*. Pode atingir de 25 m a 30 m de altura e são encontradas em alguns estados da região Norte do Brasil com maior prevalência no estado do Pará. O fruto mede de 1 cm a 2 cm de diâmetro com o peso médio de 1,5 gramas.<sup>(1)</sup> A sua polpa apresenta uma camada de 1 mm de espessura e a coloração pode ser roxo-escuro ou preta. Existem algumas variações, as diferenças se restringem a coloração, tamanho e peso dos

cachos. O açaí roxo-preto é conhecido como o açaí tradicional, o açaí branco é conhecido como açaí tinga e é de difícil obtenção. O açazeiro inicia seu ciclo de produção de frutos com a idade de 4 anos.<sup>(2)</sup>

A polpa do açaí é utilizada para a produção de sucos, sorvetes, picolés e alimentos energéticos. Em alguns estados é habitualmente consumida com farinha de mandioca, camarão ou carne. Nas regiões produtoras, a polpa do açaí é comercializada à temperatura ambiente, sendo então consumida imediatamente.<sup>(3)</sup> Quando se destina aos comércios distantes, a polpa é congelada, porém essa

<sup>1</sup>Acadêmica do curso de Biomedicina da Universidade Paulista – Campus Tatuapé – São Paulo, SP, Brasil.

<sup>2</sup>Doutora em Oncologia, Coordenadora auxiliar do curso de Biomedicina da Universidade Paulista – Campus Tatuapé – São Paulo, SP, Brasil.

<sup>3</sup>Doutor em Distúrbios do Crescimento Celular, Coordenador Auxiliar do curso de Farmácia da Universidade Paulista – Campus Tatuapé – São Paulo, SP, Brasil.

<sup>4</sup>Doutora em Medicina Veterinária, Coordenadora geral do curso de Biomedicina da Universidade Paulista – Campus Tatuapé – São Paulo, SP, Brasil.

<sup>5</sup>Doutor em Medicina, Professor da Universidade Federal de São Paulo – Unifesp – São Paulo, SP, Brasil.

<sup>6</sup>Doutora em Ciências. Universidade de São Paulo. Professora Titular da Universidade Paulista – Campus Tatuapé – São Paulo, SP, Brasil.

Instituição: Universidade Paulista – UNIP – Campus Tatuapé – São Paulo, SP, Brasil.

Conflito de interesses: não há conflito de interesses.

Artigo recebido em 29/05/2015

Artigo aprovado em 03/02/2016

técnica de conservação provoca danos ao alimento, como perdas nutritivas, que modificam as propriedades originais.<sup>(4)</sup>

Além de alto valor energético, este alimento apresenta alto teor de lipídios, ômega 6 e ômega 9. É rico em fibras, vitaminas E, proteínas, minerais fotoquímicos e efeitos antioxidantes.<sup>(5)</sup> Esta característica se deve à presença significativa de antocianinas da classe flavoides. Estas propriedades antioxidantes o incluem no grupo de alimentos funcionais atuando na prevenção de algumas doenças que estão relacionadas ao estresse oxidativo, como doenças neurodegenerativas, cardiovasculares e câncer.<sup>(5)</sup>

A polpa do açaí está sujeita à contaminação durante a coleta devido ao açazeiro ser fonte de algumas pragas, como fungos e besouros.<sup>(1)</sup> Há casos de contaminação por barbeiro, o que levou diversas pessoas a contrair a Doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Os fatores pós-colheita também podem contaminar o fruto, como, por exemplo, a temperatura e umidade relativa entre a colheita e o consumo. Outro fator pode ser a falta de higiene dos manipuladores e dos equipamentos utilizados. Para conservação, o processo de congelamento e pasteurização são os mais utilizados. A refrigeração da polpa apresenta redução entre bolores e leveduras. Alguns estudos realizados recentemente apontam presenças de *Salmonella*, *Escherichia coli*, coliformes fecais, bolores, leveduras e pelos de roedores em polpas de açaí congeladas que eram comercializadas em grandes centros.<sup>(1,6)</sup>

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) representam um grande risco para população. DTA é um termo genérico, aplicado a uma síndrome geralmente constituída de anorexia, náuseas, vômitos e/ou gastroenterocolite aguda (GECA), acompanhada ou não de febre, atribuída à ingestão de alimentos ou água contaminados. Sintomas digestivos, no entanto, não são as únicas manifestações dessas doenças, podem ocorrer ainda afecções extra-intestinais, em diferentes órgãos e sistemas como: meninges, rins, fígado, sistema nervoso central, terminações nervosas periféricas e outros, de acordo com o agente envolvido. Dentre os agentes mais frequentes, podem-se destacar *Salmonellas* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* spp., *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens*. Toxinas produzidas por bactérias, vírus e substâncias tóxicas também são importantes nas DTAs.<sup>(7)</sup> Desta forma o conhecimento das bactérias presentes no açaí comercializado na cidade de São Paulo poderá contribuir grandemente para prevenção de gastroenterocolite aguda (GECA) e reforço da educação e da fiscalização sanitária.

## MATERIAL E MÉTODOS

No dia 5 de junho de 2014 foram coletadas vinte amostras de açaí em áreas importantes de comércio com

grande concentração populacional na cidade de São Paulo (Tabela 1). As amostras foram acondicionadas em recipientes plásticos limpos e estéreis e armazenados em caixa térmica contendo gelo seco para conservação da amostra até a chegada ao laboratório da Universidade Paulista *campus* Tatuapé.

Tabela 1 - Áreas de coletas de açaí na cidade de São Paulo, 2014

Sigla	Localidade	Região
L1	Rua 25 de Março - ponto1	Centro
L2	Rua 25 de Março - ponto 2	Centro
L3	Estação Brás - ponto1	Centro
L4	Estação Brás - ponto 2	Centro
L5	Estação Sé	Centro
L6	Estação Itaim Paulista	Leste
L7	Vila Curuçá	Leste
L8	Estação Jardim Romano	Leste
L9	Estação São Miguel	Leste
L10	Estação Tatuapé - Terminal Norte	Leste
L11	Estação Tatuapé - Terminal Sul	Leste
L12	Estação Vila Mara - ponto1	Leste
L13	Estação Vila Mara - ponto 2	Leste
L14	Catedral Sé	Centro
L15	Mercadão São Miguel Paulista - ponto1	Leste
L16	Mercadão São Miguel Paulista - ponto 2	Leste
L17	Rua Antônio de Macedo	Leste
L18	Rua Caraipés	Leste
L19	Rua Igarapés	Leste
L20	Rua São Jorge	Leste

No laboratório, as amostras foram imediatamente inoculadas nos meios de cultura agar sangue e agar MacConkey. Estes meios foram escolhidos de acordo com suas características nutricionais. O meio agar sangue é um meio enriquecido e proporciona o crescimento de bactérias Gram positivas e negativas além de fungos. O meio MacConkey é um meio seletivo diferencial, crescendo apenas bacilos Gram negativos que suportam as altas concentrações NaCl.

Após a inoculação nestes meios, as placas de Petri foram incubadas em estufa a  $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 18-24 horas. Nas placas que tiveram crescimento bacteriano, as características das colônias, tais como cor, odor, cheiro, tamanho, entre outros, foram consideradas. Pelo menos uma colônia foi selecionada nas placas em que ocorreram crescimento bacteriano e inoculadas no meio Rugai com lisina New Prov®. Este meio proporciona o diagnóstico bioquímico presuntivo das seguintes cepas: *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Providencia*, que são fermentadoras da glicose. Os tubos foram incubados em estufa a  $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 18-24 horas, e os procedimentos para

classificação do metabolismo bacteriano foram realizados de acordo com o fabricante (ápice: desaminação do L Triptofano e fermentação da sacarose; base: fermentação da glicose, produção de gás, hidrólise da ureia, produção de gás sulfídrico; parte inferior: descarboxilação da L-Lisina, motilidade; tampa: indol).

## RESULTADOS

Em todas as placas de agar sangue foram observadas crescimento bacteriano, enquanto que nas placas de agar MacConkey verificamos o crescimento bacteriano em seis placas – L2, L9, L13, L15, L19 e L20 – (Tabela 2). Em algumas delas foram observadas colônias com características morfológicas distintas. Nas placas de agar sangue, 50% apresentaram *Staphylococcus* sp. após confirmação pelo teste da catalase.

Tabela 2 - Amostras que tiveram crescimento bacteriano

Identificação - Placas de Petri	Meio agar MConkey
L2	+
L9	+
L13	+
L15	+
L19	+
L20	+

+: crescimento bacteriano

Foram selecionadas pelo menos duas colônias distintas no meio ágar MacConkey e inoculadas no meio Rugai com lisina. Após o período de incubação foi possível identificar pela bioquímica as seguintes espécies bacterianas: *Escherichia coli*, *Enterobacter* e *Serratia* (Tabela 3).

Tabela 3 - Bactérias identificadas bioquimicamente através do Meio de Rugai com Lisina

Colônias inoculadas das amostras	Micro-organismo identificado bioquimicamente
L2 - Colônia 1	<i>Escherichia coli</i>
L2 - Colônia 2	<i>Enterobacter</i>
L9 - Colônia 2	<i>Enterobacter</i>
L13 - Colônia 1	<i>Escherichia coli</i>
L13 - Colônia 2	<i>Serratia</i>
L15 - Colônia 1	<i>Serratia</i>
L15 - Colônia 2	<i>Serratia</i>
L19 - Colônia 1	<i>Enterobacter</i>
L19 - Colônia 2	<i>Enterobacter</i>
L20 - Colônia 1	<i>Enterobacter</i>

Das vinte placas (100%) que foram inoculadas, em dez (50%) foram detectadas bactérias do gênero *Staphylococcus* sp., em duas (10%) foram detectadas *Escherichia coli*, em cinco (25%), *Enterobacter* sp., e, em três, a presença de *Serratia* sp. (15%). Em quatro placas (66,6%) foi constatada a presença de mais de uma espécie bacteriana.

## DISCUSSÃO

O comércio de alimentos de rua apresenta aspectos positivos devido à sua importância socioeconômica, cultural e nutricional, e negativos no que diz respeito às questões higiênico-sanitárias.<sup>(8)</sup> A segurança alimentar depende do controle exercido sobre os perigos químicos, físicos e biológicos, os quais permeiam todas as etapas da produção do alimento. O trabalho a ser desenvolvido na linha de produção é entendido como um processo, sendo que a qualidade do resultado corresponderá à qualidade dos elementos e fatores envolvidos.<sup>(9)</sup>

A contaminação dos alimentos pode ter seu início na produção da matéria-prima, durante a manipulação, pela má higienização dos equipamentos, pelo manipulador, estendendo-se até as etapas de armazenamento, acondicionamento e distribuição, pois permitem a exposição direta ao ambiente. Assim, a incidência de doenças relacionadas ao consumo de alimentos cresce anualmente, tendo como consequência o surgimento de doenças transmitidas por alimentos (DTA).<sup>(10)</sup>

A contaminação por coliformes totais e termotolerantes ou fecais em polpas congeladas tem sido documentada na literatura, estando provavelmente associada à manipulação inadequada ou à contaminação dos equipamentos.<sup>(11)</sup> O grupo dos coliformes totais inclui as bactérias na forma de bastonetes Gram negativos, aeróbicas ou anaeróbicas, não origina esporos e fermenta a lactose, produzindo ácido e gás a 35°/37°C. As bactérias termotolerantes ou fecais são aquelas originárias do trato intestinal de humanos e outros animais de sangue quente, fermentam a lactose com produção de gás em 24 horas e suportam temperaturas acima de 40°C. Esse grupo inclui três gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*.

Na análise realizada neste trabalho, duas amostras (10%) estavam contaminadas com *Escherichia coli*, bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes fecais. Este micro-organismo faz parte da microbiota intestinal normal, tem uma tendência de se modificar de organismo comensal para um patógeno oportunista, sendo uma bactéria extremamente especializada. A *E. coli* é um dos principais micro-organismos indicadores de doenças veiculadas por alimentos.<sup>(11)</sup> Estes achados corroboram com o que foi observado no trabalho de Faria et al.<sup>(12)</sup> Este autor constatou a presença de *E. coli* em cinco amostras analisadas,

totalizando 13,8%. No estudo de Frazio et al.,<sup>(13)</sup> foi observada a presença em 2,6% das amostras de açaí, o que também ocorreu em Santos et al.,<sup>(14)</sup> mas com apenas uma confirmação nas amostras. A presença de bactérias em alimentos congelados é um fato. Em um estudo publicado em 2012, por Santos et al.,<sup>(15)</sup> foi observada a presença de coliformes fecais em 100% de polpas de diversas frutas congeladas analisadas. A presença de *E. coli* também se confirmou em amostras de sorvete.<sup>(16)</sup>

A presença de *Serratia* (15%) no estudo serve de alerta, pois esta é considerada um importante patógeno humano. Há relatos como agente causador de infecções hospitalares, do trato urinário, intestinais e intoxicações alimentares.<sup>(17)</sup>

O número de surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) cresce a cada ano e grande parte dos consumidores desconhece os requisitos necessários para uma correta manipulação de alimentos. Em estudos realizados por Amson et al.,<sup>(18)</sup> podemos ter uma ideia de quão importante são os dados obtidos através de pesquisas para DTAs; as bactérias que estão frequentemente associadas a surtos são *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp, a maioria por alimentos de origem animal. No nosso estudo encontramos *Staphylococcus* sp. em 50% das amostras analisadas. Na literatura há vários estudos sobre contaminação em diversos alimentos comercializados nas ruas. Na análise de Balbani et al.,<sup>(19)</sup> das 23 amostras de pratos típicos vendidos no comércio ambulante, em Salvador, BA, foram considerados impróprios para consumo 39,1% dos acarajés, 95,6% dos vatapás, 82,6% das saladas e 100% dos camarões secos. Os produtos reprovados nos testes microbiológicos apresentavam-se contaminados por coliformes fecais e *S. aureus*. Na cidade de São Paulo, SP, a análise de 351 amostras de doces de amendoim e 157 de doces de leite vendidos em barracas do comércio ambulante mostrou que havia fragmentos de insetos em ambos os produtos (60,7% e 58,6% respectivamente), além de ácaros (11,7% e 26,8%) e pelos de roedor (6,8% e 5,7%). Diante do exposto, observa-se a importância dos estudos relativos à contaminação dos alimentos, tanto para melhoria do que é consumido quanto para uma política de educação sanitária e vigilância.

## CONCLUSÃO

Duas espécies bacterianas encontradas neste trabalho (*Escherichia coli* e *Enterobacter*) são classificadas como coliformes fecais e, portanto, podem causar enfermidades transmitidas por alimentos, tornando estes produtos impróprios para consumo. O terceiro micro-organismo detectado, *Serratia*, é um importante agente causador de infecções hospitalares, infecções do trato urinário, infecções intestinais e intoxicações alimentares; além

destes, detectou-se *Staphylococcus* sp. em 50% das amostras analisadas, sendo este um importante causador de DTA. Este estudo serve de alerta e sinalizador para que novos estudos sejam incentivados com o intuito de se averiguar o grau de contaminação dos alimentos comercializados na cidade de São Paulo. As medidas preventivas e fiscalizadoras devem ser reforçadas no sentido de se evitarem potenciais riscos aos quais os indivíduos estão expostos diariamente.

## Agradecimentos

À responsável técnica pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade Paulista Sílvia Maria Reis, às acadêmicas Débora Faria e Camila Paula.

## Abstract

*Acai berry is considered a highly energetic fruit, a fact that arouses the interest of the national and international food industry. Its pulp is used in juices, ice cream, dried fruit mixes, or it can be freshly consumed. It helps prevent diseases that are related to oxidative stress; therefore, due to its antioxidant properties, it is included in the functional food group. Food borne diseases are caused by contaminated water or food at any stage of preparation or marketing. Objective: To verify the presence of pathogenic microorganisms in acai products marketed in several areas of high population density in the city of São Paulo. Methods: The samples were inoculated in selective and enriched culture media. After a macro and microscopic study was performed, the colonies were analyzed in regard to their biochemical characteristics. Results: In 50% of the samples, strains of bacteria including Staphylococcus sp., Enterobacter sp. (25%), Serratia sp. (15%) and Escherichia coli (10%) were detected, and in some samples the presence of more than one bacterial species could be observed. Conclusions: Two of these bacterial species are classified as fecal coliform (E. coli and Enterobacter sp.) that can cause serious diseases, thus making these products unfit for consumption. Bacteria of the genus Staphylococcus sp. are widely known as FBD agents that cause severe damage to individual and public health. Serratia sp. is an agent of nosocomial infections, urinary tract and intestinal infections and food poisoning. Preventive and inspection measures should be strengthened so that potential hazards individuals are daily exposed to can be avoided.*

## Keywords

Foodborne diseases; *Escherichia coli*; *Enterobacter* sp.; *Serratia* sp.; *Staphylococcus* sp.

## REFERÊNCIAS

1. Nascimento WMO. Açaí euterpe oleracea Mart. Informativo técnico rede de sementes da Amazônia, n°18. 2008. [acesso 2014 nov 10].
2. Oliveira MSP, Carvalho JEU, Nascimento WMO, Muller CA. Cultivo do açaizeiro para produção de frutos. Embrapa Amazônia Oriental, circular técnica n°26 p.01-14, 2002. Disponível em: [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/ProducaoDeFrutos+Circ\\_tec\\_26\\_000gbxyhj2c02wx5ok01dx9l\\_cvr6f99j.pdf](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/ProducaoDeFrutos+Circ_tec_26_000gbxyhj2c02wx5ok01dx9l_cvr6f99j.pdf)
3. Eto DK, Kano AM, Borges MTMR, Brugnaro C, Antonini SRC, Bernardi MRV. Qualidade microbiológica e físico-química da polpa e mix de açaí armazenado sob congelamento. Rev Inst Adolfo Lutz.2010; 69(3):304-10. Disponível em: [http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0073-98552010000300005&lng=pt&nrm=iso](http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552010000300005&lng=pt&nrm=iso).

4. Sousa MACS, Yuyama LKO, Aguiar JPL, Pantoja L. Suco de açaí (*euterpe oleracea* mart.): avaliação microbiológica, tratamento térmico e vida de prateleira. *Acta Amaz.* 2006; 36(4): 497-99. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672006000400010>.
5. Bernard RSF, Funchal C. Atividade antioxidante do açaí. *Rev Nutr Brasil.* 2011;10(5):310-16.
6. Fregonesi BM, Yokosawa CE, Okada IA, Massafra G, Braga Costa TM, Prado SPT. Polpa de açaí congelada: características nutricionais, físico-químicas, microscópicas e avaliação da rotulagem. *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2010; 69(3): 387-95. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v69n3/v69n3a16.pdf>.
7. Ministério da Saúde. Doenças Transmitidas por alimentos, "Manual de Prevenção e controle" 2010. [acesso 2014 nov 10]. Disponível em: [http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_integrado\\_prevencao\\_doencas\\_alimentos.pdf](http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_prevencao_doencas_alimentos.pdf)
8. Lucca A, Torres EA. Condições de higiene de "cachorro-quente" comercializado em vias públicas. *Rev Saúde Pública.* 2002;36(3):350-2. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102002000300015>.
9. Alves PT, Jardim FBB. Análise microbiológica de Cachorros quentes na cidade de Uberaba. *Cadernos de Pós-Graduação da FAZU.* [acesso 2014 nov 10].
10. Parissenti AC, Roveda BLG, Salmoria LC, Santin NC. Avaliação microbiológica de cachorros-quentes comercializados por vendedores ambulantes na cidade de Videira, SC. *Unoesc & Ciência - ACBS.* 2013;4(1):91-100. Disponível em: <http://editora.unoesc.edu.br/index.php/acbs/article/view/2536/pdf>.
11. Souza CP. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. *Rev APS.* 2006;9(1):83-8.
12. Faria M, Oliveira LBD, Costa FEC. Determinação da qualidade microbiológica de polpas de açaí congeladas comercializadas na cidade de Pouso Alegre - MG. *Alim Nutr.* 2012; 23(2): 243-49. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewArticle/1800>.
13. Fazio MLS. Qualidade microbiológica e ocorrência de leveduras em polpas congeladas de frutas [mestrado]. São José do Rio Preto: Universidade Estadual Paulista; 2006.
14. Santos CAA, Coelho AFS, Carreiro SC. Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2008;28(4): 913-915. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v28n4/a23v28n4.pdf>. doi: 10.1590/S0101-20612008000400023.
15. Santos, DP, Barros BC. Perfil higiênico sanitário de polpas de frutas produzidas em comunidade rural e oferecidas à alimentação escolar. *Rev Brasil de Tec Agro.* 2012; 6(2): 747-756. doi: 10.3895/S1981-36862012000200002.
16. Hoffmann FL, Cruz CHG, Vinturim TM, Mayer ZMGS. Qualidade higiênico-sanitária de sorvetes comercializados na cidade de São José do Rio Preto (SP) Brasil. *B.Ceppa.* 1995;13(12):99-108. Disponível em: <http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/alimentos/article/view/14163>doi: 10.5380/cep.v13i12.14163.
17. Menezes EA, Cezafar FC, Andrade M do S, Rocha MV, Cunha FA. Frequency of *Serratia* sp in urine infections of intern patients in the Santa Casa de Misericórdia in Fortaleza. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2004 Jan-Feb;37(1):70-1. [Article in Portuguese]. doi: 10.1590/S0037-86822004000100020.
18. Geus JAM, Lima IA. Análise de coliformes totais e fecais: um comparativo entre técnicas oficiais VRBA e Petrifilm EC aplicados em uma indústria de carnes. *Anais do 2º Encontro de Engenharia e Tecnologia dos Campos Gerais, Ponta Grossa, Brasil, 2006.*
19. Balbani APS, Butugan O. Contaminação biológica de alimentos. *Pediatria (São Paulo)* 2001;23(4):320-8.

---

Correspondência

**Flávia de Souza Gehrke**

Rua Antônio de Macedo, 505 - Parque São Jorge  
03087-040 – São Paulo, SP, Brasil

## Monitoramento da qualidade da coloração de Papanicolaou no Instituto Nacional de Câncer

### *Papanicolaou staining quality monitoring in National Institute of Cancer*

Mario Lucio Cordeiro Araujo Junior<sup>1</sup>

Daniela Alves Santana<sup>2</sup>

Lívia Braga de Almeida<sup>3</sup>

Flavio Paiva de Paula Ribeiro<sup>4</sup>

Claudio Borys Nunes Guimarães<sup>4</sup>

Fabiano Lacerda Carvalho<sup>5</sup>

Claudia Lopes Pires<sup>6</sup>

#### Resumo

**Introdução:** A coloração de Papanicolaou é universalmente aplicada em laboratórios de citopatologia. A versão clássica passou por modificações baseadas em dados da literatura, reduzindo o número de lavagens e/ou substituindo algumas substâncias químicas. **Objetivo:** Descrever a coloração de Papanicolaou adaptada pela Seção Integrada de Tecnologia em Citopatologia (SITEC) do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) e demonstrar a necessidade da troca de corante, a fim de manter a qualidade da coloração. **Métodos:** Monitoramento da coloração de 760 lâminas escolhidas aleatoriamente de um total de 160.933 exames colpocitológicos, utilizando o método convencional, no período de outubro de 2011 a março de 2012. Todos os dados obtidos para análise foram organizados em tabelas utilizando-se o programa Microsoft Excel 2010. **Resultados:** A perda da qualidade da coloração do EA aconteceu após 1.750 lâminas coradas para cada 430 mL de corante, a da Hematoxilina ocorreu após 2.250 lâminas/430 mL, sendo determinada a troca de 50% da solução a cada 1.500 lâminas e 100% a cada 3.000 lâminas e o Orange G mostrou perda na qualidade após 6.000 lâminas. **Conclusão:** Neste estudo, compartilhamos a experiência da SITEC/DIPAT/INCA na formulação dos corantes e monitoramento dos prazos de validade dos mesmos a fim de garantir a qualidade desse procedimento, permitindo a leitura segura dos exames colpocitológicos.

#### Palavras-chave

Coloração de Papanicolaou; Citopatologia; Controle de qualidade

## INTRODUÇÃO

A coloração de Papanicolaou é universalmente utilizada em citopatologia ginecológica e constitui um dos critérios a ser analisado na fase pré-analítica do Monitoramento Interno da Qualidade (MIQ) dos laboratórios públicos e privados prestadores de serviço para o Sistema Único de Saúde (SUS).<sup>(1-3)</sup>

Nesta técnica, os esfregaços citopatológicos, após serem fixados, seguem para a bateria de coloração, que é constituída por um corante nuclear, a hematoxilina, e dois citoplasmáticos, Orange G e EA (36, 50 ou 65).<sup>(1,3-5)</sup>

A coloração de Papanicolaou clássica, criada em 1942, por Georgius Nikolaou Papanicolaou, passou por modificações apresentadas baseadas na literatura, reduzindo o número de lavagens e/ou alterando substâncias químicas, a fim de diminuir os custos e o tempo, além de reduzir os prejuízos ao meio ambiente, porém, mantendo os critérios estabelecidos para avaliação da qualidade.<sup>(4,6,7)</sup>

Este estudo tem como objetivo descrever a coloração de Papanicolaou adaptada pela Seção Integrada de Tecnologia em Citopatologia (SITEC) da Divisão de Patologia (DIPAT) do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) e demonstrar o método utilizado

<sup>1</sup>Médico Citopatologista, Doutor em Medicina, Seção Integrada de Tecnologia em Citopatologia do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>2</sup>Citotecnologista, Bióloga, Seção Integrada de Tecnologia em Citopatologia do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>3</sup>Citotecnologista, Bióloga, Bolsista de Desenvolvimento Institucional do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>4</sup>Citotecnologista, Seção Integrada de Tecnologia em Citopatologia do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>5</sup>Citotecnologista, Farmacêutico, Seção Integrada de Tecnologia em Citopatologia do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>6</sup>Médica Citopatologista, Seção Integrada de Tecnologia em Citopatologia do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Instituição: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Artigo recebido em 26/11/2015

Artigo aprovado em 19/02/2016

para monitorar o prazo de validade do corante, a fim de manter a qualidade da coloração.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo qualitativo consistiu na análise da coloração, indicador da fase pré-analítica do MIQ, proposto na Portaria do Ministério da Saúde nº 3.388, que redefine a Qualificação Nacional em Citopatologia na prevenção do câncer do colo do útero (QualiCito)<sup>(2)</sup> e no Manual de Gestão da Qualidade para Laboratórios de Citopatologia.<sup>(1)</sup>

O controle de qualidade foi realizado por meio do monitoramento de 760 lâminas escolhidas aleatoriamente de um total de 160.933 exames colpocitológicos, utilizando-se o método convencional, no período de outubro de 2011 a março de 2012. Para realizar a coloração, foi utilizada a coradora automática Shandon Varistain 24-4 (GMI inc). A bateria de coloração de Papanicolaou adaptada pela SITEC/DIPAT/INCA está representada na Tabela 1. Todas as cubas de corantes foram preenchidas com o volume de 430 mL, quantidade necessária para corar o esfregaço e não atingir as etiquetas, prejudicando a identificação.

O controle da qualidade foi realizado diariamente, por amostragem, para monitorar a qualidade de cada corante, inclusive sua estabilidade. Para cada lâmina observada ao microscópio óptico Nikon Eclipse E200, foram atribuídas notas de 0 a 10, considerando os seguintes critérios: a intensidade de coloração nuclear, o contraste entre a coloração citoplasmática eosinofílica e cianofílica, a definição da cromatina nuclear, a qualidade da desidratação da lâmina e a clareza da montagem. Cada caso foi observado avaliado por dois citotecnologistas experientes, um deles responsável pela coloração e o outro funcionário envolvido na rotina de escrutínio. A avaliação da coloração destas lâminas foi realizada pela média das notas atribuídas. Estas lâminas ainda foram submetidas à observação e orientação de um citopatologista. As lâminas que apresentaram notas acima de 8 (Figura 1 A e B)

foram consideradas como satisfatórias na avaliação dos corantes. Desta forma, foi analisada a qualidade das três soluções (Hematoxilina, Orange G e EA). Sabendo-se que cada corante possui características e perda de sua qualidade distintas, o objetivo era diagnosticar em que momento ocorreria a perda da eficiência de cada corante. A partir desta análise foram estabelecidos critérios para a troca, ou seja, a relação entre a quantidade de lâminas coradas e a qualidade da coloração. Na SITEC/DIPAT/INCA considera-se que o momento ideal para a troca dos corantes situa-se antes da ocorrência da perda da qualidade da coloração.

Tabela 1 - Bateria de coloração adaptada pela SITEC/DIPAT/INCA

Reagentes	Volume (mL)	Tempo
Água corrente	Fluxo contínuo	1 minuto
Hematoxilina	430 mL	1 minuto e 30 segundos
Água corrente	Fluxo contínuo	3 minutos
Álcool etílico absoluto	450 mL	10 dips
Álcool etílico absoluto	450 mL	10 dips
Álcool etílico absoluto	450 mL	10 dips
Álcool etílico absoluto	450 mL	10 dips
Orange G	430 mL	15 segundos
Álcool etílico absoluto	450 mL	10 dips
Álcool etílico absoluto	450 mL	10 dips
Álcool etílico absoluto	450 mL	10 dips
Álcool etílico absoluto	450 mL	10 dips
EA 36	430 mL	2 minutos e 30 segundos
Álcool etílico absoluto	450 mL	20 dips
Álcool etílico absoluto	450 mL	20 dips
Álcool etílico absoluto	450 mL	20 dips
Álcool etílico absoluto	450 mL	20 dips
Álcool etílico absoluto	450 mL	20 dips
Xilol	450 mL	20 dips
Xilol	450 mL	20 dips
Xilol	450 mL	20 dips
Xilol	450 mL	20 dips
Xilol	450 mL	20 dips
Xilol	450 mL	20 dips

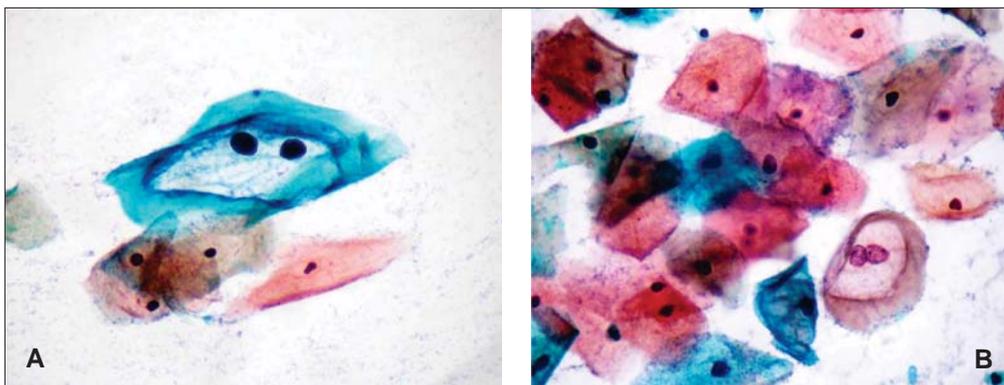


Figura 1 A e B. Coloração de Papanicolaou mostrando a diferenciação na impregnação dos corantes. Cianofilia demonstrada no citoplasma das células intermediárias e eosinofilia no citoplasma das células superficiais, ambos corados pelo EA, além de núcleos corados pela hematoxilina. Fonte: SITEC/DIPAT/INCA

Todos os dados obtidos para análise foram organizados em planilhas (programa Microsoft Excel 2010) para monitorar a qualidade da coloração, assim como a quantidade de lâminas coradas. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do INCA, CAAE 32632314.6.0000.5274.

## RESULTADOS

A Tabela 2 apresenta a quantidade de lâminas coradas e analisadas na SITEC/INCA durante o período de outubro de 2011 a março de 2012. Esse controle diário foi feito, inicialmente, a partir da observação ao microscópio (Nikon Eclipse E200), de 12 lâminas retiradas aleatoriamente da rotina. A quantidade de lâminas analisadas foi reduzida ao longo dos meses.

Tabela 2 - Total de lâminas coradas e analisadas no período de outubro de 2011 a março de 2012

Meses/Ano	Nº lâminas coradas	Nº lâminas analisadas
Out./2011	27.862	12/dia = 240
Nov./2011	29.825	6/dia = 120
Dez./2011	26.221	5/dia = 100
Jan./2012	22.444	5/dia = 100
Fev./2012	22.343	5/dia = 100
Mar./2012	32.238	5/dia = 100
Total	160.933	760

A perda da qualidade de cada corante e o momento que a SITEC/DIPAT/INCA considera ideal para realizar as trocas estão representados na Tabela 3. O corante que se mostrou mais sensível a esta diluição foi o EA, apresentando perda de sua eficiência após 1.750 lâminas coradas para cada 430 mL de corante. A diminuição da qualidade da Hematoxilina ocorreu após 2.250 lâminas/430 mL, sendo determinada a troca de 50% da solução a cada 1.500 lâminas e 100% a cada 3.000 lâminas. O Orange G possui maior estabilidade, mostrando perda na qualidade após 6.000 lâminas.

As Tabelas 4, 5 e 6 apresentam o protocolo de preparação de um litro dos corantes hematoxilina, Orange G e EA, respectivamente, na SITEC/DIPAT/INCA. Após o

Tabela 3 - Troca de corantes na SITEC, de acordo com relação entre a quantidade de lâminas coradas e a qualidade da coloração

	Hematoxilina	Orange G	EA
Perda da qualidade	2.250 lâminas	6.000 lâminas	1.750 lâminas
Troca dos Corantes na SITEC	50% da solução após 1.500 lâminas e 100% da solução após 3.000 lâminas	5.000 Lâminas	1.500 lâminas

Tabela 4 - Protocolo de preparo do corante Hematoxilina de Harris na SITEC/INCA

Hematoxilina de Harris	
Material	Quantidade
Hematoxilina (cristais)	5,0 g
Álcool etílico absoluto	50 mL
Sulfato de alumínio e potássio	100 g
Água destilada	950 mL
Óxido amarelado de mercúrio	2,0 g

Tabela 5 - Protocolo de preparo do corante Orange G6 na SITEC/INCA

Orange G	
Material	Quantidade
Orange G	Álcool etílico absoluto
Ácido fosfotúngstico	5,0 g
1.000 mL	0,15 g

Tabela 6 - Protocolo de preparo do corante EA 36 na SITEC/INCA

EA	
Material	Quantidade
Eosina amarela	2,5 g
Castanho de Bismarck	0,5 a 1,0 g
Verde luz	2,5 g
Água destilada	100 mL
Ácido Fosfotúngstico	2,0 g
Álcool absoluto	900 mL

preparo, todos os corantes são filtrados, envasados em um recipiente escuro, etiquetados com identificação, lote e data de preparo e guardados em local protegido de luz e calor.

## DISCUSSÃO

O procedimento da coloração de Papanicolaou na citologia oncológica consiste em processo de múltiplas etapas destinadas a evidenciar variações na morfologia, nos graus de maturidade e de atividade metabólica da célula.<sup>(6,8)</sup>

Simple variações como a composição química da água corrente, a temperatura ambiente, pH da amostra e número de lâminas coradas por lote podem afetar o equilíbrio entre os diferentes matizes de cores produzidas pelos corantes utilizados na técnica de Papanicolaou. Sendo assim, é fundamental que os laboratórios realizem verificações diárias de controle de qualidade com esfregaços escolhidos aleatoriamente.<sup>(1,5,9)</sup>

Após a coleta do material, os esfregaços citopatológicos devem ser fixados em álcool a 96% ou em fixadores de cobertura. Na SITEC/DIPAT/INCA, o recebimento das amostras é padronizado em álcool a 96%, considerado na literatura como o fixador mais eficiente<sup>(5)</sup> e seguem diretamente para a bateria de coloração. Já os esfregaços com fixadores de cobertura, antes da coloração, devem ser submetidos a banhos de álcool a 96% (pelo menos duas cubas, no mínimo 15 minutos cada) para eliminar a película de cobertura. Essa película inibe a penetração apropriada da coloração, especialmente da hematoxilina e do verde luz.<sup>(1)</sup>

Os corantes podem ser adquiridos prontos ou formulados a partir dos sais de corantes originais.<sup>(1,8-10)</sup> Na SITEC/DIPAT/INCA são preparados os corantes que serão utilizados na bateria de coloração, com protocolo adaptado para que se obtenha maior qualidade no diagnóstico. É importante ressaltar que, de acordo com o fabricante, esses materiais possuem características tintoriais e concentrações variáveis, que devem ser considerados pelos profissionais do setor de coloração.<sup>(7)</sup>

Gupta et al.,<sup>(8)</sup> Moosa et al.<sup>(12)</sup> e Izhar et al.<sup>(11)</sup> citam em seus trabalhos a utilização do ácido acético a 1% em substituição ao álcool etílico absoluto na preparação da coloração de Papanicolaou. Esta modificação é uma solução para países que, por motivos econômicos ou religiosos, não podem utilizar grandes quantidades de álcool etílico absoluto em seus laboratórios.

A coloração nuclear é realizada usando-se o corante natural básico, a hematoxilina. Na SITEC/DIPAT/INCA, é utilizado o método de coloração regressiva, no qual o núcleo é deliberadamente corado e o excesso de corante é removido com o fluxo contínuo da água corrente. A hematoxilina de Harris é a mais utilizada neste procedimento.<sup>(5,6)</sup>

Quando o núcleo é corado fracamente, é necessário verificar aspectos como tempo insuficiente na hematoxilina, espécime dessecado, contaminação da hematoxilina por fixadores de cobertura, tempo excessivo na água corrente, água corrente com pH ácido (excesso de cloro) ou corante com data expirada. Já quando o núcleo cora fortemente, o tempo de coloração pode ter sido ultrapassado, o corante pode estar muito concentrado ou a concentração do ácido da água corrente estar muito baixa. A solução de coloração também deve ser filtrada diariamente antes da sua utilização, caso contrário, poderá ocorrer o depósito de hematoxilina nos esfregaços.<sup>(5)</sup> Na SITEC, foi observado que, assim como os outros corantes, a hematoxilina perde sua eficiência devido à diluição crescente da solução (3.000 lâminas), ocorrida na sequência das baterias da coloração. Para se fazer a correção deste corante, pode-se realizar a troca total ou realizar trocas fracionadas com intuito de aumentar a concentração da solução. Em nossa rotina optamos em fazer, de forma intercalada, uma troca de

50% (1.500 lâminas) e, posteriormente, a troca total da solução (3.000 lâminas).

O Orange G é um corante monocromático que cora queratina, os grânulos de eosinófilos, as hemácias e as células superficiais.<sup>(13)</sup> É um corante ácido, levemente solúvel em álcool a 96% e em água. A adição de ácido fosfotúngstico, um mordante que se liga fortemente a proteínas, intensifica a cor do Orange G.<sup>(6)</sup> O tempo de exposição deste corante é variável (normalmente entre 15'' e 30''), dependendo da preferência dos profissionais quanto à intensidade desta coloração no esfregaço. O Orange G mostrou, na rotina da seção, uma maior estabilidade se comparada aos outros componentes da coloração. Na SITEC tem-se optado pela troca total da solução (5.000 lâminas), já que, no momento da detecção de sua ineficiência, a diluição do corante se mostrou bastante evidente.

O EA é um corante ácido, derivado da combinação do verde luz, eosina amarela e, em alguns casos, do castanho Bismarck. No método de Papanicolaou, o verde luz atua corando o citoplasma das células metabolicamente ativas, das células intermediárias, parabasais e células colunares, histiócitos, de carcinoma indiferenciado de grande e pequenas células e de adenocarcinoma. A eosina cora o citoplasma das células superficiais.<sup>(6,13)</sup> Na preparação do EA, os corantes eosina amarela e castanho Bismarck são diluídos em álcool absoluto. Já o corante verde luz é diluído em água. Assim, no protocolo de preparação da SITEC/DIPAT/INCA, são adicionados 100 mL de água destilada a cada litro de solução. O ácido fosfotúngstico é adicionado como parte final no processo do preparo da solução do EA. Um fator importante a ser considerado é a fotossensibilidade elevada deste corante,<sup>(6)</sup> sendo necessário o recolhimento do corante, de forma adequada, ao final da rotina, para preservar a substância e assim evitar a perda de sua eficiência de forma prematura. Deve-se ainda considerar que o EA é um corante policrômico de estabilidade delicada. Nos testes realizados no setor de coloração da SITEC, detectou-se uma queda abrupta da qualidade do corante após o início da perda de sua eficiência (1.750 lâminas). Portanto, em nossa rotina de coloração, foi estabelecido que se fizesse a troca total desta solução antes mesmo da queda prevista (1.500 lâminas), como medida de segurança, a fim de garantir a qualidade final da coloração.

Quando o citoplasma cora palidamente, é necessário verificar a data dos corantes, se os esfregaços ficaram muito tempo mergulhados no álcool ou se a remoção dos fixadores foi inadequada. Se as células estiverem coradas em rosa, as causas prováveis são: que tenham ficado pouco tempo no EA, que o esfregaço esteja dessecado, tempo muito curto nos últimos banhos de álcool, contaminação do álcool com água antes do clareamento com

xilol ou erro na preparação do corante. Caso o esfregado tenha ficado por tempo em excesso na hematoxilina, ou quando há falha na remoção da hematoxilina no método regressivo, o citoplasma pode apresentar coloração acinzentada. É necessário atentar para critérios como tempo insuficiente de coloração, tempo no álcool após os corantes citoplasmáticos, nível de solução nas cubas, filtração e agitação dos corantes, imprescindíveis para adequação da coloração citoplasmática.<sup>(5)</sup> Os resultados da coloração de Papanicolaou não dependem apenas do método utilizado, mas também das características comerciais dos corantes e do pH da amostragem celular. Portanto, a coloração de Papanicolaou não pode ser considerada como exata e perfeita.<sup>(9)</sup>

## CONCLUSÃO

A coloração de Papanicolaou é universalmente aplicada em laboratórios de citopatologia. Nesse estudo, foi compartilhada a experiência da SITEC/DIPAT/INCA na formulação dos corantes e acompanhamento dos momentos de necessidade de troca dos mesmos a fim de garantir a qualidade desse procedimento, permitindo leitura segura dos exames colpocitológicos.

### Abstract

**Introduction:** The Papanicolaou stain method is universally applied in cytopathology laboratories. The classic version has undergone modifications presented in the literature by reducing the number of washes and / or by replacing some chemicals. **Objective:** To describe the Papanicolaou staining method adapted by the Seção Integrada de Tecnologia em Citopatologia [Integrated Center for Technology in Cytopathology] – SITEC of the Instituto Nacional de Câncer [National Cancer Institute] – INCA and to demonstrate the method used to assess the need for dye exchange in order to maintain quality coloring. **Methods:** 760 slides were randomly chosen from 160,933 cervical cytology specimens, to monitor the staining quality, using the conventional method, from October 2011 to March 2012. All data for analysis was organized in tables using Microsoft Excel 2010. **Results:** The loss of EA staining quality occurred after 1,750 slides stained for each 430 mL of dye. Hematoxylin after 2250 sheets/430 mL suggesting that 50% of the solution should be replaced every 1,500 slides. After 3,000 slides 100% of the solution should be replaced. Orange G showed loss in quality after 6,000 stained slides. **Conclusion:** In this study, we share the experience of SITEC/DIPAT/INCA in the formulation of dyes and expiration dates monitoring to replace solutions in order to ensure the quality of the procedure, allowing safe screening in cervical cytology.

### Keywords

Papanicolaou staining; Cytopathology; Quality control

## REFERÊNCIAS

1. Brasil, Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação-Geral de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. Manual de Gestão da Qualidade para Laboratório de Citopatologia. Rio de Janeiro: Inca, 2012.

2. \_\_\_\_\_. Portaria nº 3.388, de 30 de Dezembro de 2013, Institui a Qualificação Nacional em Citopatologia na prevenção do câncer do colo do útero (QualiCito), no âmbito da Rede de Atenção à Saúde das Pessoas com Doenças Crônicas. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Seção 1, página 42. Brasília DF, 31 de Dezembro de 2013.
3. Koss LG, Gompel C. Citopatologia Ginecológica com Correlações Histológicas e Clínicas. São Paulo, SP. Editora Roca, 2006.
4. Dergovics FL, Moura TPS, Shirata NK, Pereira SMM. Avaliação do desempenho da mistura verniz/xilol na diafanização de lâminas de citopatologia coradas com a técnica de Papanicolaou. Rev Bras Anál Clín.2012;44(1):35-38.
5. Queiroz C, Lima D. O Laboratório de Citopatologia: Aspectos Técnicos e Operacionais. Editora Universitária UFPE, Recife, 222p, 2000.
6. Eleutério Jr J. Noções Básicas de Citologia Ginecológica. Livraria Santos Editora Ltda, São Paulo, 2003.
7. Molinaro EM. Conceitos e Métodos para Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde. Volume 2. Rio de Janeiro: EPSJV, IOC, 2010.
8. Gupta S, Chachra KL, Bhadola P, Sodhani P. Modified Papanicolaou staining protocol with minimum alcohol use: a cost-cutting measure for resource-limited settings. Cytopathology. 2010 Aug; 21(4):229-33.
9. <http://www.eurocytology.eu/en/course/1119>. Visualizado: 12 de maio de 2015, às 07:54 h.
10. Berkan TK, Reeder JE, Lopez PA Jr, Gorman KM, Wheelless LL Jr. A protocol for Papanicolaou staining of cytologic specimens following flow analysis. Cytometry. 1986 Jan;7(1):101-3.
11. Izhar S, Kaur R, Masih K. Efficacy of rapid, economical, acetic acid, Papanicolaou stain in cervical smears as an alternative to conventional Papanicolaou stain. J Cytol. 2014 Jul;31(3):154-7.
12. Moosa NY1, Khattak N, Alam MI, Sher A, Shah W, Mobashar S, et al. Comparison of cervical cell morphology using two different cytology techniques for early detection of pre-cancerous lesions. Asian Pac J Cancer Prev. 2014;15(2):975-81.
13. Bibbo M, Wilbur D. Comprehensive Cytopathology. 3ª Edição. Elsevier Editora, 2010.

Correspondência

**Mario Lucio Cordeiro Araujo Junior**  
Dipat-Inca  
Rua Cordeiro da Graça, 156 – Santo Cristo  
Rio de Janeiro, RJ, Brasil

# Prevalência de micoses superficiais em pacientes ambulatoriais da região metropolitana de Porto Alegre, RS

## *Superficial mycoses prevalence in outpatients of Porto Alegre metropolitan region, RS*

Mariana Schünemann<sup>1</sup>  
Patrícia Renck Nunes<sup>2</sup>  
Marianne Schrader de Oliveira<sup>3</sup>

### Resumo

Infecções fúngicas causam grande comprometimento à população por simularem outras patologias e por interferirem na execução das tarefas diárias e nas práticas desportivas. Micoses superficiais também podem evoluir para casos graves, como a fungemia. Nesse estudo, foram analisadas 77 amostras de lesões superficiais de pacientes com suspeita de infecção fúngica entre outubro e dezembro de 2011. As amostras foram clarificadas com KOH a 40%, visualizadas em microscopia direta e semeadas em agar Sabouraud e Micobiotic. Cinquenta e sete por cento das amostras analisadas apresentaram infecção por fungos. A maioria dos pacientes com cultura positiva foi mulheres (61%) e a faixa etária mais afetada encontrou-se entre 31 e 40 anos de idade (30%). O agente etiológico mais encontrado foi *Candida* spp. (48%), seguido de *Trichophyton mentagrophytes* (25%) e *Trichophyton rubrum* (11%). As regiões mais afetadas pelas micoses foram as unhas dos pés (71%) e a região plantar (14%), seguidos pela região das unhas das mãos (9%). Como o diagnóstico precoce e o tratamento específico podem evitar que tais lesões evoluam para quadros de infecções mais graves, o diagnóstico laboratorial do agente patológico é essencial na prescrição do tratamento, visto que diferentes espécies são sensíveis a diferentes classes de antifúngicos.

### Palavras-chave

Micoses; Candida; Dermatomicoses; Pacientes ambulatoriais

## INTRODUÇÃO

Os fungos estão presentes nos mais diversos habitats e contam com diferentes fatores favoráveis a sua dispersão, incluindo o vento, água, alimentos e animais. Devido à sua ampla distribuição, os fungos podem se apresentar como parte da microbiota transiente ou causadores de infecções oportunistas em humanos. As defesas imunitárias do organismo impedem-nos de se disseminarem, no entanto, micoses graves podem desenvolver-se nos indivíduos submetidos a terapias antibióticas de longo prazo (que alteram o equilíbrio entre fungos e bactérias) e nos que tomam corticosteroides ou imunossuppressores, tratamentos que suprimem o sistema imune. De acordo com o tecido ou órgão que afetam, as micoses podem ser classificadas em superficiais ou cutâneas, subcutâneas e profundas sistêmicas.<sup>(1)</sup>

As micoses superficiais, representadas principalmente pelas dermatofitoses e a Pitiríase versicolor<sup>(2,3)</sup> são definidas como infecções que acometem as camadas superficiais da pele, pelos e unhas.<sup>(4)</sup> Estima-se que afetam cerca de 40% da população mundial, principalmente adultos, e observa-se um aumento da ocorrência à medida que a idade avança.<sup>(5,6)</sup> As micoses constituem o segundo distúrbio cutâneo mais encontrado na população com maior idade e o terceiro entre crianças menores de 12 anos.<sup>(7)</sup>

As infecções fúngicas são comuns em países tropicais e subtropicais, como é o caso do Brasil, sendo um problema de saúde pública que reflete o nível de educação sanitária da população.<sup>(6,8)</sup> Estudos epidemiológicos indicam que estas infecções causam grande comprometimento à população por interferirem na execução das tarefas diárias e nas práticas desportivas e por simularem outras patologias, sendo necessária a análise laboratorial

<sup>1</sup>Graduanda em biomedicina – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRS – Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia e Medicina, Universidade de Lausanne – Lausanne, Suíça.

<sup>3</sup>Laboratório Endocrimeta de Análises Clínicas – Porto Alegre, RS, Brasil.

Instituição: Laboratório Endocrimeta de Análises Clínicas – Porto Alegre, RS, Brasil.

Suporte Financeiro: Laboratório Endocrimeta de Análises Clínicas.

Conflito de interesses: sem conflito de interesses.

Artigo recebido em 24/11/2012

Artigo aprovado em 02/10/2015

para seu diagnóstico definitivo.<sup>(9,10)</sup> O estudo das micoses superficiais torna-se relevante na prática médica uma vez que quadros rotineiros e inclusive esperados de micoses têm evoluído para situações clínicas complexas e, às vezes, de alto risco.<sup>(11)</sup>

Tem-se registrado um aumento na incidência de infecções fúngicas em hospitais,<sup>(12)</sup> no entanto, não existem muitos estudos sobre a epidemiologia de micoses em pacientes ambulatoriais. Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil epidemiológico de pacientes ambulatoriais afetados por micoses superficiais na grande Porto Alegre.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras analisadas consistiram de espécimes clínicos de 77 pacientes ambulatoriais com suspeita de micose superficial que foram atendidos em unidades do Laboratório Endocrimeta de Análises Clínicas na grande Porto Alegre entre os meses de outubro e dezembro de 2011. As amostras biológicas foram obtidas por meio de raspagem das regiões afetadas (unhas e pele) após assepsia com álcool a 70%.

O exame micológico direto foi realizado pela confecção de lâmina a fresco, após a clarificação do material com hidróxido de potássio a 40%, buscando-se hifas e/ou blastoconídeos em observação microscópica. Além disso, as amostras também foram semeadas (estria sinuosa em agar inclinado) em tubos contendo agar Sabouraud dextrose (10 g/L de peptona micológica, 40 g/L de dextrose, 15 g/L de agar, pH 5,6, BD) e agar Micobiotic (10 g/L de hidrolisado papaínico de farinha de soja, 10 g/L de dextrose, 0,5 g/L de cicloheximida, 0,05 g/L de cloranfenicol, 15,5 g/L de agar, pH 6,5, BD) e incubadas à temperatura de 25° a 30°C por dez a trinta dias. O cultivo foi observado diariamente e a identificação dos fungos foi feita através da avaliação macro e micromorfológica das colônias que cresceram nos meios de cultura. As amostras consideradas positivas nesse estudo tiveram a presença de fungos verificada em ambos os exames direto a fresco e cultural.

Este trabalho foi realizado através de análises de informações clínicas e epidemiológicas obtidas de banco de dados do Laboratório Endocrimeta, sendo que as amostras biológicas e os dados examinados foram identificados apenas por número, não havendo violação da identidade ou de direitos de privacidade de quaisquer pacientes durante a realização deste estudo.

## RESULTADOS

Constatou-se que, dos pacientes avaliados, 44 (57,1%) apresentaram resultado positivo para exame micológico direto e cultura, enquanto que 33 (42,9%)

tiveram resultado negativo (Figura 1). Foi realizada uma análise do perfil dos pacientes ambulatoriais com resultado micológico positivo quanto ao gênero, à faixa etária, ao local da lesão e ao agente etiológico.

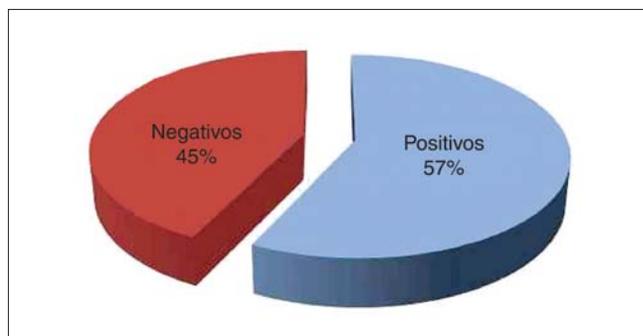


Figura 1. Ocorrência de micoses superficiais em pacientes analisados

Observou-se que a maioria dos pacientes afetados por micoses era mulheres (61%), no entanto, a maioria dos pacientes atendidos também era do sexo feminino (65%), representando as afetadas 54% (27/50) desse grupo. Já os pacientes do sexo masculino afetados por micoses representaram 63% (17/27) do total de homens atendidos no laboratório (Tabela 1).

Tabela 1 - Frequência das micoses de acordo com o sexo dos pacientes

Sexo	Total de positivos	% de positivos
Feminino (50)	27 (61%)	54% (27/50)
Masculino (27)	17 (39%)	63% (17/27)

Quanto à distribuição das micoses superficiais de acordo com a faixa etária, o grupo mais afetado foi o de 31 a 40 anos, representando 30% (13/44) da população (Figura 2).

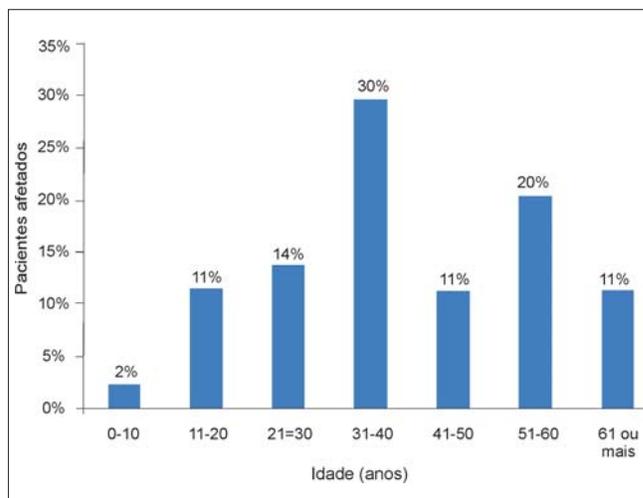


Figura 2. Distribuição da faixa etária dos afetados por micoses.

A Figura 3 mostra a frequência de micoses superficiais na população estudada de acordo com o sítio anatômico acometido. O local mais afetado por micoses foi o tecido ungueal dos pés (71%), seguido pela região plantar (14%) e as unhas das mãos (9%).

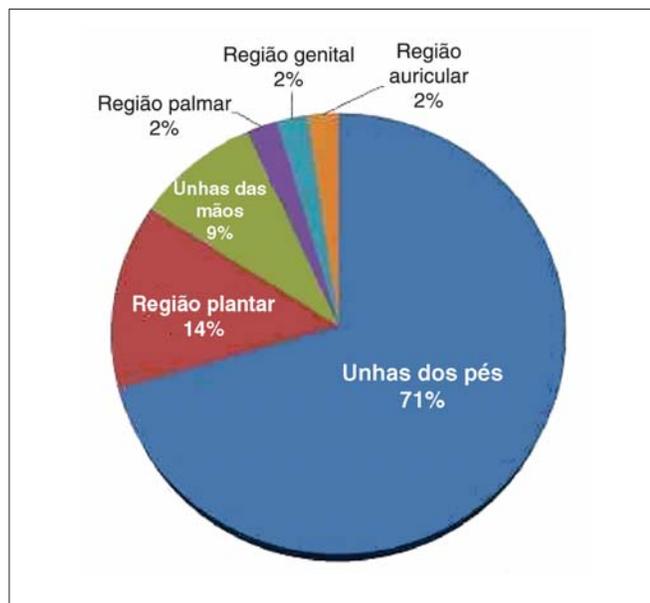


Figura 3. Frequência de micose por local anatômico.

As micoses mais frequentemente diagnosticadas foram a candidíase (48%) e as dermatofitoses (36%). O principal agente etiológico entre as dermatofitoses foi o *Trichophyton mentagrophytes*, representando 25% (11/44) das micoses superficiais, enquanto o *T. rubrum* representou apenas 11% (5/44). Também foram diagnosticados um caso de *Aspergillus terreus*, um de *Epidermophyton floccosum* e um de *Piedra negra* (Figura 4). Quase um quarto (5/21) dos pacientes com infecção por *Candida* spp. estavam sob tratamento com antifúngico.

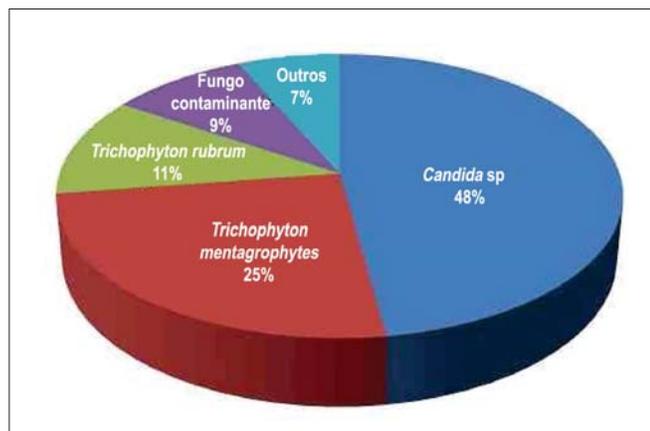


Figura 4. Agentes etiológicos das micoses

As onicomicoses podem ser classificadas em três tipos básicos: as dermatofitoses, as micoses causadas por leveduras (candidíase, Pitíriase versicolor) e as por fungos filamentosos não dermatófitos. Os fungos dermatófitos são a principal causa de micoses superficiais na população, sendo que o gênero *Trichophyton* se destaca como o mais frequentemente encontrado em dermatofitoses, representado majoritariamente pelas espécies *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*.<sup>(9,13-15)</sup> No presente estudo, cerca de 36% dos patógenos identificados pertenciam a este gênero, o que corrobora com estudos anteriores feitos em outras populações.<sup>(14,16,17)</sup> Neste trabalho, a espécie mais isolada desse gênero foi o *T. mentagrophytes* (25%), o que difere de vários estudos na literatura em que a espécie mais frequente é o *T. rubrum*,<sup>(9,14,15,17,18)</sup> embora já tenha sido reportada uma maior prevalência de *T. mentagrophytes* em relação ao *T. rubrum*.<sup>(19,20)</sup> A distribuição dos diferentes patógenos depende de diversos fatores, como região geográfica, clima e migração.<sup>(15)</sup> Além disso, grande parte das pesquisas é realizada com pacientes de hospitais<sup>(9)</sup> ou com grupos de risco, como idosos<sup>(14,16)</sup> ou crianças,<sup>(18)</sup> enquanto que este estudo analisou dados de pacientes ambulatoriais, não se restringindo a uma faixa etária.

O gênero *Candida* é o principal causador de onicomicoses por leveduras. Devido à sua presença na pele saudável como componente da microbiota normal humana, a *Candida* pode ser transmitida por contato entre indivíduos saudáveis e imunocomprometidos, além de apresentar-se como fonte endógena e exógena de infecção. Por essa razão, a *Candida* é o patógeno oportunista mais reportado na literatura, sendo mais frequentemente causador de micoses superficiais, mas também de infecções mais graves como a candidemia.<sup>(21-23)</sup> A prevalência de *Candida* spp. varia enormemente de acordo com a população avaliada. Na população estudada, 48% das micoses foram causadas por esse gênero. Interessantemente, quase 25% dos pacientes com diagnóstico positivo para *Candida* spp. estavam em tratamento com antifúngicos no momento da coleta, alguns há vários meses. Existem espécies de *Candida* não *albicans* intrinsecamente resistentes a antifúngicos, como a *C. krusei*, entretanto, essas espécies geralmente possuem menor prevalência em relação a *C. albicans*.<sup>(24-26)</sup> Outros estudos mostram que os índices de resistência das espécies *C. albicans* e *C. tropicalis* podem chegar a 67% e a 44% para fluconazol e a 17% e a 44% para cetoconazol, respectivamente.<sup>(24)</sup> No trabalho de Dalazen et al.,<sup>(25)</sup> esses índices foram ainda maiores em isolados de *Candida* spp., atingindo valores de 97% para anfotericina B, 93% para fluconazol e 73% para miconazol, observando-se um predomínio da resistência adquirida. O desenvolvimento de cepas cada vez mais resistentes aos antifúngicos disponíveis pode se tornar um problema de

saúde pública grave nos próximos anos. Tal processo é certamente acelerado pela automedicação e a terapia empírica, ressaltando mais uma vez a necessidade do diagnóstico laboratorial prévio ao tratamento.<sup>(27)</sup>

Os fungos filamentosos não dermatófitos são mais prevalentes em locais quentes e com umidade como as zonas de clima tropical e subtropical, do que em áreas de clima temperado.<sup>(28)</sup> A frequência desse grupo oscila entre 1% e 10%, segundo diferentes autores, variando com a região geográfica e com o local de procedência da amostra.<sup>(17,29)</sup> Neste trabalho, foi identificado apenas um caso de *Aspergillus terreus* e um de *Piedra negra*, demonstrando uma frequência extremamente baixa desses fungos não dermatófitos na população analisada. A prevalência reduzida desse grupo de fungos em relação às dermatofitoses e às candidíases já foi evidenciada em outros estudos que verificaram poucos casos de não dermatófitos em suas amostras.<sup>(17,30,31)</sup>

A faixa etária mais afetada por micoses nesse estudo encontra-se entre 31 e 40 anos. Em contraste, a grande maioria dos estudos epidemiológicos disponíveis atualmente foi realizada em idosos ou pacientes hospitalizados. Como o presente estudo avaliou uma população ambulatorial sem restrição de idades, algumas diferenças entre os índices de prevalência e o perfil de infecção reportados na literatura foram encontradas. Entre elas, destacam-se a maior detecção de onicomicoses por leveduras em relação às dermatofitoses (48% e 36%, respectivamente).<sup>(9,14,19,29,30)</sup> No entanto, algumas similaridades também foram observadas, como a grande proporção de pacientes nos quais a infecção encontra-se na região dos pés (unhas – 71% – e região plantar – 14%).<sup>(9,14,19,29)</sup>

A porcentagem de resultados positivos para amostras coletadas na região dos pés, incluindo pele, regiões interdigitais e unhas, somam 85% do total. Tal localização preferencial para as micoses pode estar relacionada com a formação de um local propício para o desenvolvimento de fungos, principalmente durante o período do inverno no Sul do Brasil. A umidade derivada do suor ou da secagem incompleta dos pés antes do uso de sapatos fechados garante a umidade, o calor e a escuridão que favorecem o desenvolvimento de dermatofitoses e de candidíases. A taxa reduzida de crescimento das unhas dos pés também contribui para uma maior predisposição de acometimento dessa região.<sup>(14,16,32)</sup>

Na comparação entre os sexos, 61% das amostras positivas eram provenientes de mulheres. Sabe-se que o trauma e a agressão à pele podem servir como portas de entrada para infecções fúngicas oportunistas, como a candidíase. Mulheres que fazem trabalhos manuais ou domésticos com frequência, que estão em contato com produtos de limpeza corrosivos ou que usam sapatos de salto alto diariamente têm maior chance de apresentarem

lesões nas mãos, unhas e pés que podem facilitar o estabelecimento da micose. Além disso, materiais de manicure e pedicure não esterilizados corretamente constituem uma importante fonte de infecção.<sup>(9,14,32,33)</sup>

## CONCLUSÃO

Foi possível observar que mais da metade dos pacientes que buscaram o diagnóstico ambulatorial tiveram resultado positivo, sendo que o sexo feminino e a faixa etária entre 31 e 40 anos apresentaram-se como os grupos de maior prevalência. O local mais afetado pelas micoses encontradas foram as unhas dos pés e a região plantar. Quanto ao agente etiológico, o mais encontrado foi a *Candida* spp., isolada em 48% dos casos. Devido à existência de diversas cepas desse gênero resistentes aos principais antifúngicos disponíveis, faz-se necessário o diagnóstico laboratorial prévio à prescrição do tratamento. Do mesmo modo, a detecção precoce da infecção e o tratamento específico podem evitar que tais lesões evoluam para quadros de infecções mais graves.

## Agradecimentos

Ao Laboratório Endocrimeta de Análises Clínicas pelo suporte.

## Abstract

*Fungal infections are very detrimental to the population since they mimic other pathologies and interfere in daily tasks and sport activities. Superficial mycoses can also evolve to serious pathologies, such as bloodstream infections. In this study, 77 superficial lesions of patients with suspected fungal infection were analyzed between October and December of 2011. The samples were prepared with 40% KOH, examined under microscopy and inoculated in Sabouraud and Micobiotic mediums. 57% of the samples were positive for fungal infection. The majority of the infected patients were women (61%) and the most affected age group was between 31 and 40 years old (30%). The most frequent etiological agent was *Candida* spp. (48%), followed by *Trichophyton mentagrophytes* (25%) and *Trichophyton rubrum* (11%). The most affected places by mycoses were toe nails (71%), feet sole (14%), and finger nails (9%). Since the early diagnosis and specific treatment can prevent such lesions from evolving to more severe infections, the laboratory diagnosis of the pathological agent is essential for treatment prescription, as different species are sensitive to different therapeutic approaches.*

## Keywords

*Mycoses; Candida; Dermatomycoses; Outpatients*

## REFERÊNCIAS

1. Trubulsi LR, Alterthum F. Microbiologia. 4a. ed. São Paulo, Atheneu, 2004, 718 p.
2. Rippon JW. Medical Mycology: The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes. Philadelphia, WB Saunders, 1988, 797 p.
3. Siqueira ER, Ferreira JC, Maffei CM, Candido RC. Ocorrência de dermatófitos em amostras de unhas, pés e mãos coletadas de estudantes universitários. Rev Soc Bras Med Trop. 2006;39(3): 269-71.

4. Lacaz C da S, Porto E, Martins JEC, Vaccari EMH, Melo NT. Tratado de Micologia Médica. São Paulo, Sarvier, 2002, 1104 p.
5. Souza EAF, Mota VA, Almeida LMM, Rossi, Guilhermetti E, Svidzinski TIE. Freqüência de onicomicoses por leveduras em Maringá, Paraná, Brasil. *An Bras Dermatol.* 2007;82(2):151-6.
6. Arenas J, Ruiz-Esmenjaud J. Onychomycosis in childhood: a current perspective with emphasis on the review of treatment. *An Bras Derm.* 2004;79(2):225-32.
7. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Microbiologia Médica.* 3a. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S.A., 2000, 604 p.
8. Costa TR, Costa MR, Silva MV da, Rodrigues AB, Fernandes O de FL, Soares AJ, Silva M do RR. Etiologia e epidemiologia das dermatofitoses em Goiânia, GO, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1999;32(4):19-22.
9. Coelho MPP, Mendes BG, Soprana HZ, Santos LFF, Nappi, BP, Santos JI dos. Micoses observadas em pacientes atendidos no Hospital Universitário, Florianópolis, Santa Catarina. *RBAC.* 2005; 37(1):27-30.
10. Sidrim JJ, Moreira JLB. Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1999, 287 p.
11. Guilhermetti E, Kioshima ES, Shinobu C, Silva SC, Mota VA, Svidzinski TIE. *Micologia Médica: uma área das Análises Clínicas que está em expansão.* RBAC. 2004;36(1):51-3.
12. Beck-Sagué C, Jarvis WR. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis.* 1993 May;167(5):1247-51.
13. Loo DS. Onychomycosis in the elderly: drug treatment options. *Drugs Aging.* 2007;24(4):293-302.
14. Polo A, Graziotin NA. Micoses superficiais em idosos residentes em entidade beneficente na Região Norte do estado do Rio Grande do Sul. *RBAC.* 2011;43(1):29-33.
15. Faergemann J, Baran R. Epidemiology, clinical presentation and diagnosis of onychomycosis. *Br J Dermatol.* 2003 Sep;149 Suppl 65:1-4.
16. Pereira CQM. Identificação de espécies de fungos causadores de onicomicoses em idosos institucionalizados no município de São Bernardo do Campo. 2012, 87 p. Mestrado, Dermatologia. - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo.
17. Araujo AJG, Bastos OMP, Souza MAJ, Oliveira JC de. Onicomicoses por fungos emergentes: análise clínica, diagnóstico laboratorial e revisão. *An Bras Dermatol.* 2003;78(4):445-55.
18. Balci E, Gulgun M, Babacan O, Karaoglu A, Kesik V, Yesilkaya S, et al. Prevalence and risk factors of tinea capitis and tinea pedis in school children in Turkey. *J Pak Med Assoc.* 2014 May;64(5): 514-8.
19. Afshar P, Khodavaisy S, Kalthori S, Ghasemi M, Razavyoon T. Onychomycosis in north-East of Iran. *Iran J Microbiol.* 2014 Apr; 6(2):98-103.
20. Cozzani E, Agnoletti AF, Speziari S, Schiavetti I, Zotti M, Persi A, et al. Epidemiological study of onychomycosis in older adults with onychodystrophy. *Geriatr Gerontol Int.* 2015 May 15. doi: 10.1111/ggi.12496.
21. Edwards JE Jr. Invasive candida infections--evolution of a fungal pathogen. *N Engl J Med.* 1991;324(15):1060-2.
22. Colombo AL, Guimarães T. Epidemiologia das infecções hematógenas por *Candida* spp. *Rev Soc Bras Med.Trop.* 2003; 36(5): 599-607.
23. Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouér SA, Arthington-Skaggs B, da Matta DA, et al. Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *J Clin Microbiol.* 2006;44(8):2816-23.
24. Benedetti VP, Fornari G, Schervinski NR. Avaliação da susceptibilidade a antifúngicos de diferentes espécies de leveduras *Candida* isoladas de mucosa bucal e pele. *RBAC.* 2011;43(2):93-5.
25. Dalazen D, Zanrosso D, Wanderley L, Silva NL de, Fuentefria AM. Comparação do perfil de suscetibilidade entre isolados clínicos de *Candida* spp. orais e vulvovaginais no Sul do Brasil. *J Bras Patol Med Lab.* 2011;47(1):33-8.
26. Valle GC, Rende JC, Okura MH. Estudo da incidência do gênero *Candida* em hospital público universitário. *NewsLab.* 2010;101: 202-22.
27. Moretti ML. A importância crescente das infecções fúngicas. *Rev Panam Infectol.* 2007;9(2):8-9.
28. Straten MRV, Balkis MM, Ghannoum MA. The role of nondermatophyte molds in onychomycosis: diagnosis and treatment. *Dermatologic Therapy.* 2002;15:89-98.
29. Lima K de M, Rêgo RS de M, Montenegro F. Diagnósticos Clínicos e Laboratoriais das Onicomicoses. *NewsLab.* 2007;83:184-96.
30. Souza TS, Paula NCR, Souto RCF. Prevalência de micoses superficiais diagnosticadas em um laboratório de análises clínicas em Goiânia, Goiás. *Estudos.* 2014;41(4):855-68.
31. Aquino VR, Constante CC, Bakos L. Freqüência das dermatofitoses em exames micológicos em Hospital Geral de Porto Alegre, Brasil. *An Bras Dermatol.* 2007;82(3):239-44.
32. Araujo AJG, Bastos OMP, Souza MAJ, Oliveira JC. Ocorrência de onicomicose em pacientes atendidos em consultórios dermatológicos na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. *An Bras Derm.* 2003; 78(3):299-308.
33. Ramos-e-Silva M. Onicomicoses - Diagnóstico diferencial. *Dermatologia Atual.* 2000;6(1):27-34.

Correspondência

**Mariana Schünemann**Rua Portugal, 1087 – Bairro Higienópolis  
90520-310 – Porto Alegre, RS, Brasil

## Avaliação de contaminação bacteriana de mobiliário de laboratório de microbiologia de uma universidade do Rio Grande do Sul

### *Evaluation of the bacterial contamination of microbiology laboratory furniture of a Rio Grande do Sul university*

Juliano Aquino Rodrigues<sup>1</sup>

Anderson Gomes Weissmann<sup>2</sup>

Tanise Machado Telles<sup>3</sup>

Rodrigo Noronha de Mello<sup>4</sup>

#### **Resumo**

De acordo com estudos em laboratórios de microbiologia, trabalhadores são expostos a riscos inerentes ao seu trabalho. O mapeamento destes riscos constitui uma importante metodologia para a proteção do trabalhador. Logo este estudo tem por finalidade avaliar o grau de contaminação em aulas práticas de microbiologia em uma universidade do Rio Grande do Sul, para ressaltar a importância da biossegurança, aplicando a boa prática laboratorial quando o assunto é desinfecção da bancada do laboratório. A avaliação foi feita em oito aulas, utilizando a coleta de amostra sobre a bancada com swab em dois momentos distintos. A primeira coleta foi feita antes da aula, após desinfecção com álcool a 70%, e a segunda logo após a aula, com intuito de demonstrar a possível contaminação bacteriana na bancada, que, por conseguinte, coloca em risco a saúde do aluno. Das 48 placas coletadas após as aulas, 65% foram positivas para crescimento bacteriano. Dentre as 31 placas positivas, 32% foram identificadas com bacilo Gram negativo (BGN) e 64% com cocos Gram positivo (CGP). Conclui-se a importância da desinfecção antes e após a aula prática com o objetivo de assegurar a ausência de microrganismos potencialmente infectantes.

#### **Palavras-chave**

Laboratório; Bacteriologia; Contaminação

## INTRODUÇÃO

O homem está cada vez mais preocupado em valorizar a saúde e o bem-estar, no entanto, ao contrário do que revela esta realidade, ocorre em determinados ambientes o descuido com fatores tais como a higiene e a consciência de práticas educativas.<sup>(1)</sup>

Estudos relacionados a acidentes de trabalho na área da saúde têm sido desenvolvidos desde a década de 70, em consequência principalmente de falta de EPIs, cansaço por excesso de trabalho, mau uso de equipamentos e até mesmo armazenamento inadequado de materiais.<sup>(2)</sup>

### **A contaminação**

A identificação de novos agentes infecciosos, a crescente expansão de infecções e doenças já conhecidas têm estimulado a revisão das medidas de controle,

destacando a utilização de barreiras mecânicas, químicas e ambientais, fundamentadas nas especificidades inerentes aos elementos da cadeia do processo infeccioso.<sup>(3)</sup>

No Brasil, decorrem vários problemas que afetam a saúde da população, como a contaminação da água, do solo, da atmosfera e a proliferação de vetores, e a saúde dos trabalhadores em função de contato de resíduos. Os problemas são agravados no momento em que ocorre o descaso com o gerenciamento dos resíduos do serviço de saúde. De acordo com dados da Pesquisa Nacional de Saneamento Básico, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a estimativa, em 2008, é de serem coletadas diariamente cerca de 228.413 toneladas de resíduos no Brasil.<sup>(4)</sup> Em geral, estima-se que 1% destes corresponda aos resíduos da área da saúde, totalizando cerca de 2.300 toneladas diárias. Segundo o IBGE, 74% dos municípios brasileiros depo-

<sup>1</sup>Biomédico. Universidade Luterana do Brasil – Canoas, RS, Brasil.

<sup>2</sup>Fisioterapeuta e Técnico Laboratorial. Universidade Luterana do Brasil – Canoas, RS, Brasil.

<sup>3</sup>Aluna de Graduação do Curso de Biomedicina. Universidade Luterana do Brasil – Canoas, RS, Brasil.

<sup>4</sup>Mestre em Genética e Toxicologia Aplicada. Professor Adjunto/Coordenador de Atividades – PPGTA/ULBRA-RS – Canoas, RS, Brasil.

Instituição: Universidade Luterana do Brasil – Canoas, RS, Brasil.

Artigo recebido em 07/10/2012

Artigo aprovado em 19/02/2016

sitam o lixo hospitalar a céu aberto, 57% separam dejetos nos hospitais e apenas 14% das prefeituras tratam adequadamente os resíduos dos serviços de saúde, gerando um alto risco de contaminação para a população.<sup>(3)</sup>

O desafio no tratamento de resíduos provenientes dos serviços de saúde tem impulsionado a legislação e as políticas públicas para questões relacionadas à sustentabilidade do meio ambiente e preservação da saúde. Atualmente, no Brasil, o manejo dos resíduos de serviços de saúde é regido pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 306 de 2004 e pela Resolução CONAMA 358 de 2005. De acordo com a RDC 306/2004, a classificação dos resíduos abrange os seguintes grupos: A) resíduos potencialmente infectantes; B) resíduos com risco químico; C) rejeitos radioativos; D) resíduos comuns e recicláveis e E) materiais perfurocortantes.<sup>(5)</sup>

### A contaminação laboratorial

Os profissionais da área da saúde, particularmente em hospitais e laboratórios, estão sujeitos a adquirir infecções, principalmente as hepatites B e C, a AIDS e a tuberculose. As duas primeiras incidências podem ser consideradas altas e subnotificadas; a AIDS, ainda pelo aspecto de doença fatal, e a tuberculose, por suas diversas consequências sobre a vida dos profissionais.<sup>(3)</sup>

Atualmente, mais de 90% de acidentes em laboratório decorrentes de contaminações biológicas ocorrem devido à deficiência das informações sobre as fontes de perigo, assim como a negligência no respeito às normas de biossegurança. É fundamental que o estudante manipulador de microrganismos conheça os regulamentos de biossegurança em vigor nas aulas práticas.<sup>(6)</sup>

As vias de infecção são várias, começando pelas vias aéreas, oral, inoculação direta e mucosas, sendo a maioria dessas contaminações consequentes por uso inadequado dos EPIs, falta de cuidado com material utilizado e a pressa ao realizar o procedimento. Os acidentes mais comuns não são trágicos, porém, o profissional de laboratório está exposto diariamente a intoxicações e situações nocivas que podem levá-lo a uma lesão, doença ou danos permanentes.<sup>(2)</sup>

Segundo alguns autores, para a indução de uma doença infecciosa são necessários fatores como: presença de um patógeno, dose de inoculação, virulência do patógeno, suscetibilidade do hospedeiro e uma porta de entrada no hospedeiro. Trabalhadores de laboratórios clínicos que estão expostos a estas condições possuem uma grande chance de contrair uma infecção.<sup>(2)</sup>

Dentre as principais vias de transmissão de agentes infecciosos podem-se destacar as mãos. A microbiota das mãos constitui-se de bactérias transitórias e resistentes. A flora transitória que coloniza a camada superior da pele

é de mais fácil remoção pela lavagem das mãos e é frequentemente adquirida pelo contato com os doentes ou com superfícies contaminadas. As mãos dos profissionais de saúde podem se tornar permanentemente colonizadas com uma flora patogênica adquirida no ambiente hospitalar.<sup>(7)</sup>

### Biossegurança

De acordo com estudos, em laboratórios que realizam diariamente manipulação de microrganismos, pessoas são expostas a riscos inerentes ao seu trabalho. O mapeamento destes riscos constitui uma importante metodologia para o reconhecimento dos riscos inerentes ao local de trabalho.<sup>(8)</sup>

Estes riscos têm representado uma importante ameaça à saúde dos trabalhadores que exercem suas atividades em ambiente laboratorial. O conceito de risco é bidimensional, representando uma possibilidade de um efeito adverso ou dano à saúde. Os fatores de risco podem ser classificados em: físicos (radiação, ruído, vibração e temperatura), químicos (substâncias químicas, poeiras, vapores) e os biológicos (vírus, bactérias e fungos).<sup>(6)</sup>

Visando minimizar tais riscos, é essencial o estabelecimento de um Programa de Biossegurança específico, que deverá dotar o laboratório de estrutura física, administrativa e técnica compatível com as atividades desenvolvidas, promovendo assim ações preventivas. Entretanto, somente a utilização de tecnologias e equipamentos adequados não é suficiente para o controle necessário e garantia da segurança, pois a conduta e o cuidado de cada profissional na execução das atividades são fundamentais.<sup>(9)</sup>

O ato de lavar as mãos, por exemplo, torna-se essencial, pois é uma medida eficaz de prevenção da transmissão cruzada de microrganismos resistentes a antimicrobianos, além da redução do risco de morbidade e mortalidade devido a infecções hospitalares. Apesar de evidenciada a eficiência, ainda se observa uma forte resistência em sua adesão após o cuidado do paciente ou manuseio de agentes infecciosos.<sup>(7)</sup>

A descontaminação do laboratório deve ser realizada visando à distribuição ou remoção de microrganismos de bancadas, artigos e superfícies por meio da esterilização do ambiente, distribuindo também os esporos.<sup>(2)</sup> A colonização das mãos, superfícies e artigos, dá-se, na maioria das vezes, por *Staphylococcus aureus* e bacilos Gram negativos adquiridos durante as mais variadas atividades clínicas.<sup>(7)</sup>

Estas bactérias podem ser encontradas na forma isolada ou em colônias e podem viver tanto na presença de ar (aeróbias), na ausência de ar (anaeróbias) quanto na forma de anaeróbias facultativas.<sup>(1)</sup>

As superfícies contaminadas podem servir como reservatório de agentes patogênicos, mas normalmente não são associadas diretamente à transmissão de infecções para profissionais da área da saúde ou pacientes. Mesmo diminuindo o impacto da transmissão através das mãos, a limpeza correta e desinfecção são fundamentais para a redução da incidência de infecções. Dentre os fatores que influenciam na escolha do procedimento de desinfecção das superfícies, são: a) natureza do item a ser desinfetado, b) número de microrganismos presentes, c) resistência do microrganismo, d) quantidade de matéria orgânica presente, e) tipo e concentração germicida usado, f) duração e temperatura do contato com o germicida e, por fim, g) as especificações e indicações de uso do produto pelo fabricante. Quanto à eficiência dos agentes químicos, o sabão é classificado pela ação menos eficaz seguido do detergente, sendo o agente com maior eficácia o glutaraldeído.<sup>(9)</sup>

As infecções relacionadas à saúde atualmente representam uma preocupação não somente dos órgãos de saúde competentes, mas um problema de ordem social, ética e jurídica em face das implicações na vida dos usuários e os riscos aos quais estes estão submetidos.<sup>(10)</sup> A higienização das mãos é apontada como a conduta de maior facilidade a ser adotada na prática, contudo não possui adesão generalizada, sendo substituída pelo uso de luvas, que pode ser consequência de maior valorização do profissional de saúde em relação ao desconhecimento da importância e eficácia da higienização das mãos na prevenção da disseminação de microrganismos.<sup>(11)</sup>

Considerando esta afirmação sobre a importância da higienização das mãos, o presente estudo tem como finalidade realizar uma avaliação bacteriana das bancadas antes e depois das aulas práticas no laboratório de microbiologia da Universidade Luterana do Brasil, no município de Canoas, Rio Grande do Sul.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo teve como principal objetivo realizar uma avaliação bacteriana da superfície das bancadas do laboratório de microbiologia de uma universidade no Rio Grande do Sul, com intuito de obter uma avaliação do grau de contaminação nessas aulas após a suposta manipulação de microrganismos pelos alunos, e, ao mesmo tempo, mostrar a importância de se empregar corretamente a desinfecção antes e depois das aulas.

A técnica de coleta com o *swab* foi empregada para a obtenção do material nas bancadas antes e depois das aulas realizadas no laboratório de microbiologia, onde ocorreram as aulas dos cursos de Farmácia, Biomedicina, Estética, Química Industrial, Engenharia Ambiental e Odontologia desta universidade, totalizando oito aulas.

### Técnica de coleta com o *swab*

Segundo a literatura, esta técnica pode ser utilizada para analisar superfícies de bancadas, utensílios, equipamentos e até mesmo mãos de manipuladores de microrganismo.<sup>(12)</sup>

A seguinte técnica consiste na utilização de um cotonete de algodão esterilizado por óxido de etileno, o qual é utilizado para coletar materiais para testes microbiológicos com a finalidade clínica ou de pesquisa. Após a realização da assepsia nas bancadas em torno do bico de Bunsen antes das aulas, realizou-se a coleta utilizando-se o *swab* nos mesmos pontos dessa assepsia, dois pontos por bancada, totalizando seis pontos. Em seguida, os alunos ocuparam as bancadas para desenvolver suas atividades de microbiologia com possível manipulação de microrganismos. Ao término de cada aula realizou-se uma nova coleta com o *swab* nos mesmos pontos da primeira coleta, totalizando mais seis pontos de coleta, obtendo um número final de 12 (doze) placas por aula.

### Desinfecção da bancada

De acordo com o manual do Ministério da Saúde (1994), "*Processamento de Artigos e Superfícies em estabelecimentos de saúde*", a desinfecção da superfície das bancadas do laboratório realizada no início de cada aula foi feita da seguinte forma:

1. com o uso de luvas, retirou-se o excesso de carga contaminante com papel absorvente;
2. desprezou-se o papel utilizado em saco plástico;
3. aplicou-se sobre a superfície da bancada álcool a 70% deixando-o agir por alguns minutos;
4. removeu-se o produto com auxílio de um novo papel absorvente.

### Cultivo e semeadura

O meio de cultura escolhido foi o BHI, *Brain Heart Infusion* (Himedia®), em uma concentração de 52 g para 500 mL de água destilada. Este é um meio de cultura basal, não seletivo, indicado para o crescimento de vários microrganismos, como bacilos Gram positivos, bacilos Gram negativos, e cocos Gram positivos. A semeadura em placa de Petry foi feita na forma de estria do mesmo modo em todas as placas. No laboratório, as placas foram incubadas em estufa microbiológica a uma temperatura de 35°-37°C por um período de 24-48 horas. Decorrido o tempo necessário de incubação foi observado o aspecto das colônias sobre a superfície das placas.

Todas as placas foram analisadas no que se refere à presença ou ausência de colônias bacterianas. Com a finalidade de padronizar a leitura das placas, foram estabelecidas as seguintes denominações:

- 1) (A) Ausência: placa sem crescimento macroscópico de colônias;

2) (P) Presença: placa com crescimento macroscópico de colônias.

### Técnica de Gram

As bactérias possuem uma estrutura relativamente simples. São microrganismos procariontes, que se reproduzem por divisão assexuada. A parede celular em torno da bactéria é complexa e possui basicamente duas formas: as que possuem uma espessa camada de peptidoglicano em sua parede celular, além de magnésio e ácido teicoico, são denominadas Gram positivas, e as que possuem uma fina camada de peptidoglicano em sua parede celular são denominadas Gram negativas.<sup>(13)</sup>

Com o objetivo de verificar apenas se houve contaminação ou não, a identificação das bactérias das culturas positivas não entrou no presente estudo, mas sua classificação quanto à coloração de Gram foi de escolha para se obter uma precisão maior nos resultados.

Para tal utilizou-se a seguinte técnica, adaptada de Murray (2007):<sup>(13)</sup>

1. Retirou-se, utilizando-se alça bacteriológica esterilizada por flambagem em bico de Bunsen, uma pequena amostra de colônia.
2. A amostra foi diluída em uma pequena gota de salina, em lâmina histológica, e fixada por calor.
3. Adicionou-se o corante primário (cristal violeta), deixando-o reagir por um minuto.
4. Lavagem com solução salina.
5. Adicionou-se o mordente (Lugol), deixando-o reagir por um minuto.
6. Lavagem com solução salina.
7. Realizou-se uma rápida descoloração com álcool-cetona.
8. Adicionou-se o corante secundário (Fucsina de Gram), deixando-o reagir por 45 segundos.
9. Lavagem com solução salina.
10. Após a lâmina estar seca, esta foi observada em microscópio óptico em aumento de 1.000x

## RESULTADOS

Foi coletado material sobre a superfície da bancada próximo ao bico de Bunsen em dois momentos distintos; uma coleta procedeu-se depois da desinfecção com álcool a 70%, antecedendo a aula, e a outra coleta ocorreu logo após a aula sem a realização da desinfecção com o produto, e, desta forma, seguiu-se em oito aulas práticas de microbiologia. Todas as 48 culturas de amostras coletadas anteriormente às aulas não desenvolveram crescimento bacteriano após 12-48 horas de incubação, demonstrando então a eficácia da desinfecção utilizando-se o álcool a 70%, servindo assim como o controle negativo deste experimento. Das 48 placas semeadas após as aulas, em

65%<sup>(31)</sup> houve crescimento bacteriano, e 35%<sup>(17)</sup> não desenvolveram nenhum tipo de crescimento bacteriano, conforme demonstrado na Tabela 1.

A análise morfológica das placas positivas foi realizada utilizando-se a técnica de coloração de Gram. Dentre as culturas positivas, 32% representam ser BGN (bacilo Gram negativo) e 64% CGP (cocos Gram positivo), como está representado na Tabela 1.

Tabela 1 - Análise de Morfologia e coloração de Gram de placas positivas

Data de coleta	Total de placas analisadas	Morfologia e Gram			
		BGN*	BGP*	CGN*	CGP*
22.08	4 (12,90%)	3 (9,67%)	0	0	1 (3,22%)
23.08	3 (9,67%)	2 (6,44%)	0	0	1 (3,22%)
24.08	2 (6,45%)	1 (3,22%)	0	0	1 (3,22%)
25.08	4 (12,90%)	0	0	0	4 (12,90%)
26.08	5 (16,12%)	1 (3,22%)	0	0	4 (12,89%)
29.08	5 (16,12%)	1 (3,22%)	0	0	4 (12,89%)
31.08	2 (6,45%)	0	0	0	2 (6,45%)
01.09	6 (19,35%)	2 (6,45%)	0	0	4 (12,90%)
Total (%)	31 (100%)	10 (32,24%)	0	0	21 (64,82%)

\* BGN - Bacilos Gram Negativos; BGP - Bacilos Gram Positivo; CGN - Cocos Gram Negativo; CGP - Cocos Gram Positivo

## DISCUSSÃO

A presença de altos níveis de bactérias, ou a presença de um tipo incomum de microrganismo em um ambiente hospitalar ou laboratorial, indica a ocorrência de fontes de proliferação de microrganismos no interior do ambiente ou deficiência de métodos que possam determinar a destruição dos mesmos. Conclui-se que a presença e a proliferação desses microrganismos devem-se também em consequência de uma metodologia aplicada de forma errônea de limpeza, ou seja, desinfecção do ambiente onde se manipula microrganismos, como, por exemplo, a bancada de um laboratório, e que, na quantidade encontrada, esses microrganismos podem desencadear processos patogênicos. Contudo, faz-se ainda necessária uma análise mais profunda e complexa de identificação, para, de fato, comprovar que tipos de doenças esse microrganismos podem ocasionar.<sup>(1)</sup>

Vale ressaltar que algumas bactérias são altamente patogênicas, e, independente da quantidade, podem afetar a saúde do ser humano. A suscetibilidade à contaminação está intimamente relacionada com o estado imunológico do indivíduo, sendo, portanto, questão importante a ser observada à saúde dos trabalhadores e às potenciais fontes de agentes biológicos. No ambiente laboratorial,

as principais vias de contaminação por agentes biológicos são a dérmica e a respiratória.<sup>(8)</sup>

Os acidentes mais comuns em laboratório são as colisões devido à falta de espaço na área no laboratório. É prevalente a notificação de acidentes com material biológico entre trabalhadores em laboratórios de análises clínicas.<sup>(2)</sup> A deficiência das políticas de proteção à saúde do trabalhador e ao sistema de coleta e disposição final dos resíduos de serviço de saúde potencializam o perigo de acidentes de trabalho. Quando gerenciados inadequadamente, os resíduos representam um risco para a saúde dos trabalhadores, direta ou indiretamente, especialmente materiais perfurocortantes, principais resíduos associados à transmissão de agravos.<sup>(5)</sup> Canali et al. relataram que, no período de seis anos, no estado de São Paulo, os estudantes da área da saúde aparecem como a quarta categoria que mais registrou acidentes com material biológico, totalizando 1.069 acidentes.<sup>(14)</sup>

Superfícies tocadas frequentemente por mãos de pacientes ou profissionais da saúde em laboratórios ou hospitais apresentam uma variedade de patógenos que podem causar infecções. Neste contexto, a limpeza e desinfecção das superfícies são fundamentais e devem ser realizadas da forma correta com os desinfetantes adequados.<sup>(15)</sup>

Um desinfetante geralmente utilizado na limpeza de superfícies é o álcool a 70%. Kawagoe et al.<sup>(16)</sup> investigaram, por meio de uma pesquisa, duas hipóteses que desaprovam a eficácia da utilização do álcool a 70% diretamente sobre superfícies contaminadas. A primeira hipótese é referente à inativação do álcool pela matéria orgânica, e a segunda à possibilidade de fixação de matéria orgânica, conseqüentemente o seu acúmulo com a utilização do álcool em superfícies. Foi realizado um experimento que desaprovou a inativação do álcool a 70% pela matéria orgânica, no qual se provou uma redução microbiana de pelo menos 99,9% na presença da matéria. Quanto à segunda hipótese, não foram encontrados estudos que provassem a fixação de matéria orgânica com a utilização do álcool a 70%.

Em busca de resposta do método mais adequado de aplicação do álcool a 70% para descontaminação de superfícies, um estudo inglês,<sup>(17)</sup> publicado em 2009, investigou *in vitro* a eficácia de dois métodos de aplicação do álcool em superfície contaminada com microrganismos. Um dos métodos testados foi a fricção com álcool a 70% embebido num tecido por um período de contato de dez segundos, e o outro pelo método de *spray/dry wipe* (borrifar o álcool e esfregar com tecido seco). Como resultado, o método por fricção apresentou melhor desempenho na redução da carga microbiana do que o método de *spray*, o que reflete uma prática comum em nosso meio nos estabelecimentos de saúde.

## CONCLUSÃO

Foi possível observar neste estudo que não está havendo a desinfecção da bancada de trabalho após as aulas de microbiologia pelos alunos da universidade, o que indica que práticas educativas voltadas à biossegurança devem ser aplicadas aos alunos e revisadas e cobradas pelos professores. Ressalta-se que, além de bactérias, fungos, parasitas e vírus podem estar presentes nas bancadas, sendo que estes têm o potencial de infectar o utilizador da área de trabalho, causando doenças. Isto reforça o emprego de um protocolo de desinfecção, incluindo a aplicação de álcool a 70%.

### Abstract

*According to studies carried out in microbiology laboratories, people are exposed to risks inherent to their work. The assessment of these risks is an important method to protect the worker. Thus, this study aims to assess the degree of contamination in practical microbiology classes of a University in Rio Grande do Sul, to highlight the importance of biosafety, good laboratory practice, applying good laboratory practices when it comes to disinfect the laboratory bench. The evaluation was performed in eight classes, collecting samples on the bench with a swab at two different periods. The first sample was collected before the class, after a disinfection with 70% alcohol, and the second sample was collected soon after the end of the class, in order to demonstrate a possible bacterial contamination of the bench, and thus endangering the health of student. Of the 48 plates collected after school, 65% were positive for bacterial growth. Among the 31 positive plates, 32% were identified with Gram-negative rods and 64% with Gram-positive cocci. Therefore it follows the importance of disinfection before and after school practice in order to assure the absence of potentially infectant microorganisms.*

### Keywords

Laboratory; Bacteriology

## REFERÊNCIAS

- Alves AP, Souza D, Borges JG, Rocha MA, Jesus RP. Análise asséptica em ambientes de uso comum no campus da Universidade Castelo Branco, Realengo. *Revista Eletrônica Novo Enfoque*. 2010;11(11):21-6.
- Rocha MB, Oliveira MS, Silva AM. Acidentes laboratoriais - A importância do uso dos equipamentos de proteção individual (EPIs). *Safety, Health and Environment World Congress*. 2010; 452:25 -8.
- Penteado MS, Oliveira TC. Infraestrutura de biossegurança para agentes biológicos em hospitais do sul do Estado da Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Enfermagem - REBEn*. 2010.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Censo 2000. Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2000. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 2 fevereiro. 2016.
- Gessner, et al. O manejo dos resíduos dos serviços de saúde: um problema a ser enfrentado. *Cogitare Enfermagem*. 2013;18(1): 117-23.
- Vieira RGL, Santos BMO, Martins CHG. Physical and chemical risks in a clinical analysis laboratory from a university. *Revista Medicina*. 2008;41(4):508-15.
- Custodio, et al. Avaliação microbiológica das mãos de profissionais da saúde de um hospital particular de Itumbiara, Goiás. *Revista de Ciências Médicas, Campinas*. 2009;18(1):7-11.

8. Franklin SL, Bettini DR, Mattos UAO, Fortes JDN. Avaliação das condições ambientais no laboratório de anatomia patológica de um hospital universitário no município do Rio de Janeiro. *Jornal Brasileiro de Patologia Médica*. 2009;45(6):463-70.
9. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde. Módulo 1: biossegurança e manutenção de equipamentos em laboratório de microbiologia clínica. ANVISA, 2010.
10. Primo MGB, Ribeiro LCM, Figueiredo LFS, Sirico SCA, Souza MA. Adesão à prática de higienização das mãos por profissionais de saúde de um Hospital Universitário. *Rev. Eletrônica de Enfermagem*. 2010;12(2):266-71.
11. Oliveira AC, Cardoso CS, Mascarenhas D. Precauções de contato em Unidade de Terapia Intensiva: fatores facilitadores e dificultadores para adesão dos profissionais. *Rev. Esc. Enfermagem USP*. 2019;44(1).
12. Coelho AIM, Milagres RCRM, Martins JFL, Azeredo RMC, Santana AMC. Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais. *Revista Ciência & Saúde Coletiva*. 2010;15(1):1597-606.
13. Murray PR, Rosenthal KS Pfauer MA. *Microbiologia Médica*. 5ª ed. Madrid, Espanha, Elsevier Editora, 2007.
14. Canali RTC, et al. Acidentes com Material Biológico entre Estudantes de Enfermagem. *Revista de Enfermagem UERJ*, RJ. 2010;18(2) 259-64.
15. Dancer SJ. Hospital cleaning in the 21st century. *Eur J Clin Microbial Infect Dis*. 2011;30:1473-81.
16. Kawagoe JY, et al. Bacterial reduction of alcohol-based liquid and gel products on hands soiled with blood. *AM J Infect Control*. 2011;39(9):785-7.
17. Panousi MN, et al. Evaluation of Alcohol Wipes Used During Aseptic Manufacturing. *Society for Applied Microbiology*. 2009; 48:648-51.

---

Correspondência

**Rodrigo Noronha de Mello**

Av. Farroupilha, nº 8001, Prédio 01, Sala 22 – Bairro São José  
92425-900 – Canoas, RS, Brasil

## Pesquisa de bacilos Gram negativos não fermentadores no interior do corpo de torneiras em hospital privado

### Research of non-fermenting Gram negative bacilli isolated from the interior of taps bodies of a private hospital unit

Alexandre Oliveira da Silva<sup>1</sup>

Josely Alvarenga<sup>2</sup>

Marcelo Ribeiro de Almeida Guedes<sup>1</sup>

Rosângela Firmino<sup>3</sup>

Carlos Alberto Sanches Pereira<sup>4</sup>

#### Resumo

**Objetivo:** Avaliar a presença de bacilos Gram negativos não fermentadores no interior do corpo de torneiras de uma unidade hospitalar privada do município de Volta Redonda, RJ. **Métodos:** Um total de 53 amostras foram coletadas do corpo de torneiras das unidades: UTI, Centro Cirúrgico, Clínica Cirúrgica, Clínica Médica e Pronto Socorro, introduzindo swab estéril em movimentos giratórios. As amostras foram esgotadas em placa de Petri contendo agar MacConkey e agar BHI (Himedia®) acrescido de 5% de sangue de carneiro e incubados em estufa bacteriológica em temperatura de 35°C por até 48 horas. Os microrganismos isolados foram submetidos à coloração de Gram e aos testes da catalase e oxidase e identificados através dos sistemas Painei NF III e Painei para Enterobactérias (Probac®) e pelo Sistema API®Staph (bioMérieux). **Resultados:** Os percentuais de culturas positivas e negativas foram de 60% (32) e 40% (21), respectivamente. Os resultados mostram que os BGNNF correspondem a 67% dos isolados, seguidos pelas enterobactérias (21%) e cocos Gram positivos (12%). **Conclusão:** Os sistemas de distribuição de água do ambiente hospitalar, especialmente o corpo das torneiras, necessitam de vigilância microbiológica, pois podem tornar-se veículos de propagação e disseminação de microrganismos patogênicos.

#### Palavras-chave

Infecção hospitalar; *Pseudomonas aeruginosa*; Contaminação

## INTRODUÇÃO

Os bacilos Gram negativos não fermentadores (BGNNF) são microrganismos frequentemente envolvidos em casos de infecções adquiridas nas Unidades de Tratamento Intensivos (UTIs), principalmente nas infecções do trato respiratório, devido à sua ampla distribuição ambiental e sua capacidade de se manter viável nestes ambientes, particularmente na água e em seus sistemas de distribuição.<sup>(1)</sup>

Práticas adequadas de higiene e desinfecção ambiental são fundamentais para o controle destas infecções. Tais práticas incluem a higienização de superfícies inanimadas, ar e água.<sup>(2-4)</sup>

A emergência de BGNNF, em ambiente nosocomial, com sensibilidade antimicrobiana diminuída, vem adquirindo importância como agentes de IRAS. O uso indiscriminado de antimicrobianos é um fator de

risco importante para o surgimento e disseminação de resistência, fazendo com que o controle da infecção hospitalar seja um desafio para os profissionais da área da saúde.<sup>(5,6)</sup>

*Pseudomonas aeruginosa* tem sido um dos principais patógenos envolvidos em casos de IRAS, mas outros BGNNF, como *Acinetobacter baumannii* e *Stenotrophomonas maltophilia* também são constantemente reportados. Alguns estudos demonstraram que uma considerável parcela dos pacientes internados em UTI, com infecção nosocomial por *P. aeruginosa*, estavam infectados pelo mesmo clone presente no interior das torneiras daquele ambiente.<sup>(7-11)</sup>

Devido à persistência destes microrganismos em superfícies inanimadas expostas ao ambiente, o estudo de material coletado do interior de torneiras do âmbito hospitalar é de interesse para a segurança do paciente hospitalizado.<sup>(12,13)</sup>

<sup>1</sup>Especialista em Microbiologia Clínica - Centro Universitário Geraldo Di Biase – UGB – Volta Redonda, RJ, Brasil.

<sup>2</sup>Pós-graduada em Microbiologia Clínica - Centro Universitário Geraldo Di Biase – UGB – Volta Redonda, RJ, Brasil.

<sup>3</sup>Microbiologista do Laboratório do Hospital Unimed-VR – Volta Redonda, RJ, Brasil.

<sup>4</sup>Professor/Coordenador da Pós-graduação em Microbiologia Clínica do Centro Universitário Geraldo Di Biase – UGB – Volta Redonda, RJ, Brasil.

Artigo recebido em 29/06/2013

Artigo aprovado em 11/09/2014

O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de bacilos Gram negativos não fermentadores no interior do corpo de torneiras de uma unidade hospitalar privada do município de Volta Redonda, RJ.

## MATERIAL E MÉTODOS

A coleta das amostras foi realizada no interior das torneiras da Unidade de Terapia Intensiva, Clínica Médica, Clínica Cirúrgica, Pronto Socorro e Centro Cirúrgico de uma Unidade Hospitalar privada da cidade de Volta Redonda, RJ.

As torneiras estavam assim distribuídas: Clínica Cirúrgica, 12 torneiras; Clínica Médica, 18; UTI, 9; Pronto Socorro, 9 e Centro Cirúrgico, 5.

As coletas foram realizadas retirando-se o aerador das torneiras e introduzindo-se no interior do seu corpo *swab* estéril em movimentos giratórios. Este movimento foi repetido quatro vezes. Posteriormente, os *swabs* foram inoculados em meio de transporte de Stuart e encaminhados ao laboratório de microbiologia do Centro Universitário Geraldo Di Biase, onde as amostras foram processadas.

Com o auxílio de alça bacteriológica, uma alíquota da amostra de cada *swab* foi esgotada em placa de Petri contendo agar MacConkey (Himedia®), preparado de acordo com as instruções do fabricante e também em agar BHI (Himedia®) acrescido de 5% sangue de carneiro. Os *swabs* foram inoculados em tubos contendo 2 mL de caldo BHI, para controle da recuperação dos microrganismos. As placas de Petri e os tubos foram incubados em estufa bacteriológica, em temperatura de 35°C, por até 48 horas.

Decorrido o período de incubação, as placas e tubos foram observados para confirmação de crescimento. As placas que não apresentaram crescimento e os tubos correspondentes foram analisados para confirmação e descarte de crescimento de microrganismo.

Os microrganismos em colônias isoladas foram submetidos à coloração de Gram e aos testes da catalase e oxidase. Um novo repique em 2 mL de caldo BHI foi feito por três vezes para posterior congelamento em tubos criogênicos.

Após o congelamento de todas as amostras, iniciou-se a etapa de identificação. Para isso, as amostras foram descongeladas, ativadas em caldo BHI e o repique feito por três vezes consecutivas. As amostras de microrganismos Gram negativos com resultado positivo para o teste da oxidase foram inoculadas em Paineis NF III (Probac®) e as amostras negativas para o teste da oxidase foram inoculadas em Painel para Enterobactérias (Probac®). A identificação dos cocos Gram positivos foi feita com Sistema API®Staph (bioMérieux®).

## RESULTADOS

Foram coletadas amostras da parte interior do corpo de 53 torneiras em todos os setores da unidade hospitalar. Deste total, 60% (32) apresentaram crescimento bacteriano, onde foram isolados BGNNF, enterobactérias e cocos Gram positivos, ao passo que 40% (21) não apresentaram crescimento bacteriano. O setor que apresentou a maior taxa de crescimento bacteriano foi a Clínica Cirúrgica (Tabela 1).

Tabela 1 - Total de culturas positivas e negativas por setor

Local de coleta	Culturas positivas	Culturas negativas
Clínica Cirúrgica	11 (92%)	1 (8%)
Clínica Médica	10 (55%)	8 (45%)
UTI	6 (67%)	3 (33%)
Pronto-Socorro	4 (44%)	5 (55%)
Centro Cirúrgico	1 (20%)	4 (80%)
Total	32 (60%)	21 (40%)

Na Clínica Cirúrgica, amostras coletadas de duas torneiras apresentaram crescimento de mais de uma espécie de microrganismos. Em uma destas torneiras, foram isolados *Chryseomonas luteola* e Complexo *Burkholderia cepacia*, e, na outra, *Chryseobacterium indologenes* e *Chryseomonas luteola*. Todos os isolados deste setor foram BGNNF, entre eles: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Burkholderia* sp.

Na Clínica Médica, foi recuperada apenas uma espécie de bactéria por torneira. Este setor foi o que apresentou maior diversidade de microrganismos; além dos BGNNF, foram isoladas enterobactérias e cocos Gram positivos. O *Staphylococcus epidermidis* e *Chryseomonas luteola* foram os microrganismos mais prevalentemente encontrados, somando três isolados cada espécie, seguidos por *Roseomonas* sp. (2), *Proteus mirabilis* (1) e *Micrococcus luteus* (1).

Nas torneiras da Unidade de Terapia Intensiva foram encontrados apenas membros da família *Enterobacteriaceae* num total de seis isolados. Foram encontrados dois membros do Grupo Entérico 137 e duas *Raoultella ornithinolytica* e um isolado de *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca*.

O Pronto Socorro, assim como o Centro Cirúrgico apresentou crescimento bacteriano de apenas uma espécie de microrganismo – *Roseomonas* sp. No Pronto Socorro quatro torneiras apresentaram crescimento bacteriano e, no Centro Cirúrgico, apenas uma torneira.

Os BGNNF mais prevalentemente encontrados foram *Chryseomonas luteola* e *Roseomonas* sp. ambas com sete isolados (20%), acompanhadas por *Burkholderia* sp.,

três (9%), *Stenotrophomonas maltophilia* e Complexo *Burkholderia cepacia*, ambas com dois isolados (6%), *Pseudomonas aeruginosa*, um (3%) e *Chryseobacterium indologenes*, um (3%) (Tabela 2). Os BGNNF representam 67% das bactérias isoladas, seguidos pelas enterobactérias (21%) e cocos Gram positivos (12%).

Tabela 2 - Frequência e prevalência de microorganismos encontrados

Microorganismo	Frequência	Prevalência (%)
<i>Chryseomonas luteola</i>	7	20
<i>Roseomonas</i> sp.	7	20
<i>Burkholderia</i> sp.	3	9
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	9
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	6
Complexo <i>Burkholderia cepacia</i>	2	6
Grupo Entérico 137	2	6
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	3
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	1	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	3
<i>Proteus mirabilis</i>	1	3
<i>Micrococcus luteus</i>	1	3
Total	34	100

## DISCUSSÃO

Os microorganismos encontrados no interior do corpo das torneiras, como, por exemplo, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus mirabilis*, têm sido notadamente considerados patógenos relacionados a IRAS, principalmente em pacientes hospitalizados. *Stenotrophomonas maltophilia* é um microorganismo emergente, promotor de surtos em unidades de terapia intensiva cujo agravante principal é a resistência intrínseca a vários antimicrobianos, gerando altas taxas de mortalidade.<sup>(14,15)</sup>

Os sistemas de distribuição de água, especialmente, em edificações antigas (como o é caso do hospital onde o trabalho foi realizado), ou de grande porte, podem conter elevados níveis de material orgânico. Esses sistemas são geralmente complexos, podendo haver ramais interrompidos, onde a água não circula, e partes corroídas, o que pode propiciar um ambiente em que bactérias e outros microorganismos possam colonizar e ser continuamente liberados na coluna de água.<sup>(16)</sup>

Os sistemas de distribuição de água em ambientes de saúde pode representar uma das fontes mais negligenciadas de IRAS, e surtos derivados de saídas de água têm sido relatados com frequência cada vez maior. A

quantidade de células bacterianas liberadas na água é pequena, mas devem-se levar em consideração fatores como o potencial de patogenicidade e virulência do microrganismo e as condições dos cuidados de higienização, tanto do ambiente quanto dos paramentos e mãos dos profissionais de saúde e as condições imunológicas do paciente em tratamento.<sup>(16,17)</sup>

Tal premissa reforça a ideia de que, muitas vezes, os profissionais, após procedimentos com pacientes, não se atêm à importância da higienização das mãos e retornam às atividades sem se dar conta da possibilidade de disseminar microrganismos. A contaminação de locais aparentemente limpos reforça a possibilidade da disseminação de patógenos. Tais locais são definidos como superfícies limpas, sem aparente sujidade, fazendo com que muitas vezes sejam ignoradas medidas eficazes de limpeza. O trânsito de pessoas, como equipe de saúde e visitantes, na unidade, e, conseqüentemente, o contato com os pacientes, objetos e superfícies diversas confere possibilidades de disseminação de patógenos, se não forem observadas as devidas precauções, com destaque para a higienização das mãos. Entretanto, outras vias podem contribuir na transferência de patógenos.<sup>(18,19)</sup>

Os microorganismos liberados na água, a partir da colonização, dos encanamentos representam um risco de infecção para os usuários. Estes microorganismos patogênicos incluem *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, Micobactérias não tuberculosas, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter baumannii* e espécies de *Klebsiella*, bem como várias espécies de fungos, incluindo o *Aspergillus*. Esses microorganismos podem ser encontrados tanto no armazenamento central como nas águas periféricas dos sistemas de distribuição. *Pseudomonas aeruginosa* é a principal causadora de infecções graves em unidades de cuidados intensivos e é comumente encontrada em águas periféricas.<sup>(8)</sup>

A frequência de contaminação nos diversos setores estudados é coerente com a sua estrutura física. Elevada quantidade de equipamento e as condições críticas dos pacientes em cuidados intensivos levam a fatores de risco e maiores taxas de infecção. Nesses ambientes, a aquisição de infecções pode se dar a partir de fontes externas, como as das torneiras. Desta forma, deve-se aumentar o cuidado com essas possíveis fontes, evitando de forma efetiva a presença de IRAS no ambiente hospitalar.<sup>(3)</sup>

## CONCLUSÕES

Os sistemas de distribuição de água do ambiente hospitalar, especialmente o "corpo" das torneiras, necessitam de vigilância microbiológica, pois podem tornar-se veículos de propagação e disseminação de microrganismos patogênicos como os aqui relatados.

**Abstract**

**Objective:** Evaluate the presence of Non-Fermenting Gram Negative Bacilli in the interior of faucets' bodies of a private hospital unit of the municipality of Volta Redonda, RJ. **Methods:** A total of 53 samples were collected from the body of faucets of the following units: ICU, Surgical Center, Surgical Clinic, Medical Clinic and Emergency Room, introducing sterile swab in rotating movements. The samples were placed on Petri dishes containing MacConkey agar and BHI (Himedia®) agar plus 5% of ram's blood and incubated in bacteriologic stove at 35°C for up to 48 hours. The isolated microorganisms were submitted to Gram Staining and to the Catalase and Oxidase tests and identified through the NF III Panel and Panel for Enterobacteria (Probac®) systems and by the API®Staph (bioMérieux®) system. **Results:** The percentuals of positive and negative cultures were 60% (32) and 40% (21), respectively. The results showed that the NFGNB measure up 67% of the isolated, followed by the enterobacteria (21%) and Gram positive coccus (12%). **Conclusion:** The water distribution systems from the hospital environment, specially the faucet' body, need microbiologic surveillance for it can become propagation and dissemination vectors of pathogenic microorganisms.

**Keywords**

Infection Hospital; Pseudomonas aeruginosa; Contamination

**REFERÊNCIAS**

1. Anvisa. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Detecção e identificação de bactérias de importância médica, 2004. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/reniss/manual%20controle\\_bacterias.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/reniss/manual%20controle_bacterias.pdf). Acesso em 14 Abr. 2013.
2. Andrade D, Angerami ELS, Padovani CR. Condição microbiológica dos leitos hospitalares antes e depois de sua limpeza. Rev. Saude Publica. 2000;34(2):163-9.
3. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Infection Control in Health-Care Facilities: Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC), 2003. Disponível em: [http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/eic\\_in\\_hcf\\_03.pdf](http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/eic_in_hcf_03.pdf). Acesso em 14 Abr. 2013.
4. Guimarães MA, Tibana A, Nunes MP, Santos KRN. Disinfectant and antibiotic activities: a comparative analysis in Brazilian hospital bacterial isolates. Braz J Microbiol. 2000;31(1):193-9.
5. Chang MR, Carvalho NC, Oliveira AL, Moncada PM, Moraes BA, Asensi MD. - Surveillance of pediatric infections in a teaching hospital in Mato Grosso do Sul, Brazil. Braz J Infect Dis. 2003;7(2):149-60.
6. Laranjeira VS, Marchetti DP, Steyer JR, Corção G, Picoli SU. Pesquisa de Acinetobacter sp e Pseudomonas aeruginosa produtores de metalo-beta-lactamase em hospital de emergência de Porto Alegre, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 2010;43(4):462-4.
7. Blanc DS, Nahimana I, Petignat C, Wenger A, Bille J, Francioli P. Faucets as a reservoir of endemic Pseudomonas aeruginosa colonization/infection in intensive care units. Intensive Care Med. 2004 Oct;30(10):1964-8.
8. Boyer A, Doussau A, Thiébaud R, Venier AG, Tran V, Boulestreau H, et al. Pseudomonas aeruginosa acquisition on an intensive care unit: relationship between antibiotic selective pressure and patients' environment. Crit Care. 2011;15(1):R55.
9. Petignat C, Francioli P, Nahimana I, Wenger A, Bille J, Schaller MD, et al. Exogenous sources of Pseudomonas aeruginosa in intensive care unit patients: implementation of control measures and follow-up with molecular typing. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006 Sep;27(9):953-7.
10. Trautmann M, Michalsky T, Wiedeck H, Radosavljevic V, Ruhnke M. Tap water colonization with Pseudomonas aeruginosa in a surgical intensive care unit (ICU) and relation to Pseudomonas infections of ICU patients. Infect Control Hosp Epidemiol. 2001 Jan;22(1):49-52.
11. Vidal F, Mensa J, Almela M, Olona M, Martínez JA, Marco F. Bacteremia in adults due to glucose non-fermentative Gram-negative bacilli other than P. aeruginosa. QJM. 2003 Mar;96(3):227-34.
12. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. BMC Infect Dis. 2006 Aug 16;6:130.
13. Oliveira AC, Damasceno QS. Superfícies do ambiente hospitalar como possíveis reservatórios de bactérias resistentes: uma revisão. Rev Esc Enferm USP. 2010; 44(4):1118-23.
14. Almeida MTG, Érika CPB, Rossit ARB, Bertollo EMG, Martinez MB. Infecções hospitalares por Stenotrophomonas maltophilia: aspectos clínico-epidemiológicos e de resistência antimicrobiana. Arq Ciênc Saúde. 2005;12(3):141-5.
15. Anvisa. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Investigação e Controle de Bactérias Multirresistentes, 2007. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/reniss/manual%20controle\\_bacterias.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/reniss/manual%20controle_bacterias.pdf). Acesso em 14 Abr. 2013.
16. Lindsay D, von Holy A. Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know. J Hosp Infect. 2006 Dec;64(4):313-25.
17. Anaissie EJ, Penzak SR, Dignani MC. The hospital supply as a source of nosocomial infections. Arch Intern Med. 2002 Jul 8; 162(13):1483-92.
18. Hayden MK, Blom DW, Lyle EA, Moore CG, Weinstein RA. Risk of hand or glove contamination after contact with patients colonized with vancomycin-resistant Enterococcus or the colonized patient's environment. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008 Feb; 29(2):149-54.
19. Scott P, Deye G, Srinivasan A, Murray C, Moran K, Hulten E, et al. An outbreak of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii-calcoaceticus complex infection in the US military health care system associated with military operations in Iraq. Clin Infect Dis. 2007 Jun 15;44(12):1577-84.

Correspondência

**Alexandre Oliveira da Silva**

Rua Governador Luís Monteiro Portela, 81 – Atarrado  
27213-080 – Volta Redonda, RJ, Brasil

## Relação entre enteroparasitoses e alterações hematológicas em crianças da região centro-oeste do Paraná

### *Relationship between enteroparasitosis and hematological changes in children in midwest of Paraná*

Artur Mariot Netto<sup>1</sup>

Maria Goreth de Souza Brito<sup>2</sup>

Mariana Felgueira Pavanelli<sup>3</sup>

#### Resumo

**Objetivo:** Determinar a prevalência de enteroparasitoses, possíveis fatores de risco para esta infecção bem como sua relação com alterações hematológicas em crianças de uma escola pública do município de Peabiru, PR. **Métodos:** Foram realizados exames coproparasitológicos em 67 crianças e hemograma e dosagens de ferro, vitamina B12 e ácido fólico nas crianças que apresentaram diagnóstico positivo para enteroparasitoses e tiveram autorização concedida pelos pais ou responsáveis para a participação na pesquisa. **Resultados:** A prevalência de enteroparasitoses foi de 16,4%, e as crianças avaliadas não apresentaram nenhum tipo de anemia, somente alterações do tipo leucocitose e eosinofilia. **Conclusão:** Ações de educação em saúde devem ser mantidas para se evitarem reinfecções ou transmissões das enteroparasitoses.

#### Palavras-chave

Doenças parasitárias; Doenças hematológicas; Anemias nutricionais

## INTRODUÇÃO

As enteroparasitoses apresentam um grave problema de saúde pública no Brasil, bem como em outros países em desenvolvimento, gerando consequências econômicas e sociais.<sup>(1)</sup> Os parasitas intestinais estão entre os patógenos mais frequentemente encontrados nos seres humanos, porém a investigação parasitológica ainda é negligenciada no Brasil.<sup>(2)</sup>

As infecções parasitárias intestinais são comuns na infância, principalmente em crianças de classes socioeconômicas baixas, em função da falta de saneamento básico e de conhecimento acerca dos hábitos de higiene adequados, manuseio incorreto de alimentos, além do grande período de permanência nas creches e escolas, onde ocorre, na maioria das vezes, o primeiro contato com os enteroparasitas.<sup>(3)</sup> A transmissão das enteroparasitoses ocorre através da via fecal-oral direta ou indiretamente, por meio da ingestão de água e alimentos contaminados.<sup>(4)</sup>

Os enteroparasitas podem trazer desconfortos e prejuízos ao hospedeiro, como sintomas de diarreia, dores abdominais, perda de sangue nas fezes, emagrecimento,

alterações de humor, ansiedade, agitação e até mesmo propiciar o desenvolvimento de anemias.<sup>(5)</sup> Nas crianças parasitadas podem ser observadas algumas alterações como atraso no crescimento e desenvolvimento motor, rendimento prejudicado nas atividades escolares e déficit imunitário, prejudicando a homeostase.<sup>(6)</sup>

As infecções parasitárias intestinais mais comuns são causadas pelos helmintos *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos, além do protozoário *Giardia lamblia*. Tais parasitos alteram o estado nutricional do hospedeiro, afetando principalmente a digestão e absorção dos nutrientes.<sup>(4)</sup> Estas alterações na absorção de nutrientes podem levar ao desenvolvimento de anemias, as quais são diagnosticadas através da diminuição na concentração de hemoglobina, dado este visualizado no hemograma do paciente.<sup>(7)</sup>

Alguns fatores podem influenciar o surgimento das anemias carenciais, como idade, sexo, dieta pobre em nutrientes necessários para a formação da hemoglobina e certos enteroparasitas, que são responsáveis pela diminuição na absorção de até 20% do ferro adquirido através da alimentação.<sup>(7)</sup> Muitos parasitos intestinais possuem ação espoliativa, absorvem os nutrientes do hospedeiro e

Faculdade Integrado de Campo Mourão – Campo Mourão, PR, Brasil.

Farmacêutica. Faculdade Integrado de Campo Mourão – Campo Mourão, PR, Brasil.

Professora T40, Mestre. Faculdade Integrado de Campo Mourão – Campo Mourão, PR, Brasil.

Instituição: Faculdade Integrado de Campo Mourão – Campo Mourão, PR, Brasil.

Artigo recebido em 14/12/2012

Artigo aprovado em 05/10/2015

consomem o oxigênio da hemoglobina. O parasito adulto ainda pode se fixar à parede intestinal do hospedeiro, irritando o local, fazendo com que o hospedeiro perca sangue nas fezes.<sup>(5)</sup>

Os sinais clínicos comuns ao surgimento de anemias são: taquicardia, em função ao aumento do esforço cardíaco para compensar o nível de oxigênio aos tecidos, déficit de crescimento, vertigem, cansaço ao menor esforço, fraqueza, sonolência, cefaleia e diminuição do raciocínio, fatores que comprometem o aprendizado escolar em crianças acometidas.<sup>(7)</sup>

O diagnóstico precoce das enteroparasitoses é importante devido aos danos causados ao hospedeiro, os quais podem ser evitados por exames coproparasitológicos. Quando as enteroparasitoses são diagnosticadas precocemente, o tratamento medicamentoso se torna mais eficaz, evitando a evolução do parasito, eliminando assim as possibilidades de surgimento de complicações, como as anemias.<sup>(6)</sup> Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência de enteroparasitoses, possíveis fatores de risco para esta infecção bem como sua relação com alterações hematológicas em crianças de uma escola pública do município de Peabiru, Paraná.

## MATERIAL E MÉTODOS

O município de Peabiru fica localizado na região centro-oeste do Paraná, mais especificamente na região da COMCAM (Comunidade dos Municípios da região de Campo Mourão) e possui 14.144 habitantes.<sup>(9)</sup> O presente estudo foi realizado na Escola Municipal São José, a qual possuía 263 alunos matriculados do 1º ao 5º ano do ensino fundamental.

Foi realizada uma reunião com a diretora da escola e os pais ou responsáveis dos alunos, onde se explicaram os objetivos, importância da pesquisa e procedimento da coleta das amostras. Foram distribuídos aos pais e responsáveis os frascos para coleta das fezes, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e um questionário socioepidemiológico. Tal questionário abordou as seguintes variáveis: endereço, gênero e idade da criança, contato com terra e animais, hábito de roer unhas, local de residência (área urbana ou rural), consumo de água filtrada e condições sanitárias (tratamento de água e esgoto).

Aqueles pais que concordaram em participar da pesquisa coletaram amostras de fezes das crianças e as encaminharam até a escola, onde foram mantidas sob refrigeração até serem transportadas ao laboratório. As amostras fecais corretamente identificadas das crianças autorizadas foram analisadas parasitologicamente por meio das técnicas de sedimentação espontânea,<sup>(10)</sup> centrífugo-flutuação<sup>(11)</sup> e a técnica de Baermann-Moraes,<sup>(12)</sup> que se baseia no hidrófilo e termotropismo de larvas de helmintos.

As lâminas confeccionadas foram visualizadas em microscópio óptico sob aumento de 100 X e 400 X.

As crianças que apresentaram diagnóstico positivo para enteroparasitoses receberam um comunicado convocando os pais ou responsáveis para uma reunião, onde foram esclarecidos os malefícios que os parasitos oferecem às crianças, dentre eles o surgimento de manifestações secundárias, como as anemias carenciais.

Nas crianças que tiveram autorização dos pais ou responsáveis, realizou-se a coleta de 5 mL de sangue periférico, em tubos com EDTA, para hemograma completo, e sem anticoagulante para as dosagens de ferro, ácido fólico e vitamina B12.

O hemograma foi realizado utilizando-se o contador eletrônico de células Sysmex (Roche®), que determina a contagem de Hemácias (milhões/mm<sup>3</sup>), dosagem de Hemoglobina (g/dL), Hematócrito (%), Volume Corpuscular Médio – VCM (μ<sup>3</sup>), Hemoglobina Corpuscular Média – HCM (pg), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média – CHCM (g/dL), Índice de Anisocitose – RDW (%), Contagem Total de Leucócitos (mm<sup>3</sup>) e de Plaquetas (mil/mm<sup>3</sup>). A contagem diferencial de leucócitos foi realizada por meio da leitura em microscópio óptico (1000 X) da extensão sanguínea. A dosagem sérica de ferro (μg/dL) foi realizada através do método colorimétrico utilizando o equipamento Selectra E (Vitalab®). As dosagens de vitamina B12 e ácido fólico foram realizadas por meio da técnica de quimioluminescência. Todos os exames laboratoriais foram realizados em um laboratório de análises clínicas do município de Campo Mourão, PR.

Para análise estatística foram aplicados os testes do qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e *odds ratio* para investigar os possíveis fatores de risco relacionados à presença de enteroparasitoses. O cálculo do *odds ratio*, respectivos intervalos de confiança de 95% e valores de "p" foram realizados com auxílio do programa Epi Info. O teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ) foi realizado por meio do *software* Microsoft Excel 2007.

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética para Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade Integrado de Campo Mourão, PR, conforme o Certificado de Apresentação e Apreciação Ética (CAAE) nº 04589612.1.0000.0092.

## RESULTADOS

Participaram da pesquisa 67 crianças com idade entre 2 e 12 anos; destas, 11 (16,4%) apresentaram positividade aos seguintes protozoários parasitos: *Giardia lamblia*, *Entamoeba coli*, *Iodamoeba butschlii* e *Endolimax nana*. Houve dois casos de infecção mista envolvendo *Entamoeba coli* e *Iodamoeba butschlii* e *Giardia lamblia* e *Entamoeba coli*. Não foram identificados

helmintos nas amostras analisadas. As frequências de cada enteroparasito encontram-se na Figura 1.

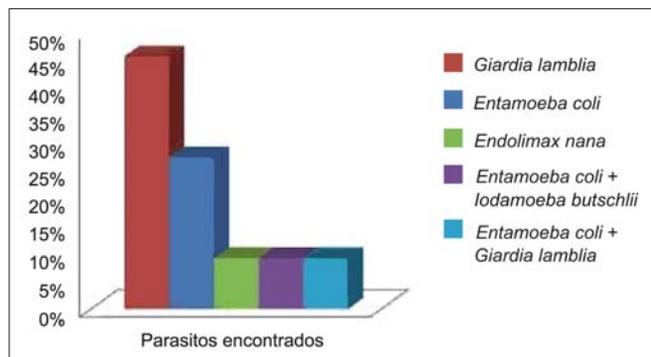


Figura 1. Frequência dos enteroparasitos encontrados nas crianças de uma escola municipal de Peabiru, PR.

A distribuição dos investigados quanto ao gênero foi praticamente homogênea: 50,7% pertenciam ao gênero feminino e 49,3% ao gênero masculino. Foi observada maior contaminação nas meninas (63,6%) em relação aos meninos (36,4%).

Para avaliação por idade, as crianças foram classificadas em diferentes estratos, os quais foram relacionados à presença dos parasitos intestinais. A faixa etária com maior prevalência de enteroparasitoses foi de 6 a 9 anos (72,7%), precedida de 2 a 5 anos (18,2%) e 10 a 12 anos (9,1%).

Algumas variáveis epidemiológicas foram relacionadas à presença de enteroparasitoses nas crianças investigadas; os resultados encontram-se expressos na Tabela 1. Quando comparadas as variáveis, por meio do teste do qui-quadrado, não foram encontradas associações significativas, sendo, talvez, este fato consequência do pequeno número de amostras.

A análise dos fatores de risco envolvidos no surgimento das enteroparasitoses nas crianças investigadas encontrou associação significativa em alguns casos, os quais estão descritos na Tabela 2.

Notou-se que uma pequena parte dos pais das crianças contaminadas não possuía ensino fundamental completo (18,2%), sendo que a maior parte possuía apenas ensino fundamental completo (72,7%). Este dado

mostrou ser um fator de risco, informação que pode ser confirmada com o valor do *odds ratio* obtido (12,2), o que prova que filhos de pais sem estudos estão mais expostos a desenvolver enteroparasitoses.

Todas as crianças parasitadas possuíam em suas residências animais de estimação. O hábito de brincar na terra também está presente em todas as crianças investigadas, ressaltando que 54,4% destas roem unhas. Este hábito foi identificado como fator de risco para o desenvolvimento de enteroparasitoses, entretanto o p-valor encontra-se acima do esperado, em função do pequeno número de investigados. Todas as crianças portadoras de enteroparasitoses não consomem água filtrada, somente clorada.

Das crianças portadoras de enteroparasitoses, 81,8% foram provenientes da zona urbana e 18,2% da zona rural. Entretanto, ao se compararem isoladamente os valores nota-se que, das 63 crianças que vivem na zona urbana, nove (14,3%) estavam contaminadas, e, das quatro crianças que vivem na zona rural, duas (50%)

Tabela 1- Distribuição de alguns aspectos epidemiológicos em crianças parasitadas e não parasitadas da Escola Municipal São José, Peabiru, Paraná

Aspectos epidemiológicos	Parasitados (n: 11)		Não parasitados (n: 56)	
	n	%	N	%
Recreação em terra	11	100	44	78,6
Onicologia	6	54,4	19	33,9
Escolaridade dos pais*				
Ens. Fund. Incompleto	2	18,2	1	1,78
Ens. Fund. Completo	8	72,7	20	35,7
Ens. Médio Completo	1	9,1	23	42,1
Ens. Sup. Completo	0	0	8	0
Domicílio				
Zona urbana	9	81,8	54	14,3
Zona rural	2	18,2	2	3,77
Animais de estimação	11	100	45	25
Sistema de abastecimento de água potável	10	90,9	54	96,4
Rede de esgotos	10	90,9	54	96,4
Consumo de água filtrada	0	0	11	19,6

\* Ausência de informação em 4 casos.

Tabela 2 - Fatores de risco relacionados ao surgimento de enteroparasitoses nos alunos da Escola Municipal São José, Peabiru, Paraná

Características (%)	Parasitados	Não parasitados	OR**	IC*** (95%)	p-valor
Escolaridade incompleta dos pais	18,2 %	1,78%	12,2	1,00 - 149,1	0,036*
Sistema de abastecimento de água potável	90,9%	96,4%	0,378	0,003 - 11,97	0,245
Onicologia	54,4%	33,9%	2,31	0,60 - 9,21	0,112

\* Valor significativo (p < 0,05)

\*\* OR: Odds ratio

\*\*\*IC: Intervalo de confiança (95%)

estavam contaminadas. Entretanto, em função deste número limitado não é prudente estabelecer uma relação entre a área de moradia e as infecções parasitárias.

Dentre as 11 crianças parasitadas, uma não compareceu no dia da coleta de sangue, sendo a análise hematológica realizada em dez crianças. As crianças avaliadas não apresentaram nenhum tipo de anemia, por conter nível de hemoglobina acima dos parâmetros da normalidade, 11,5 g/dL, preconizado pela Organização Mundial de Saúde.<sup>(13)</sup>

Ao se observarem as médias dos parâmetros hematológicos dos hemogramas e dosagem de Ferro Sérico, Vitamina B12 e Ácido fólico verificou-se que não houve alterações em nenhum dos parâmetros observados (Tabela 3). Portanto, pode-se afirmar que as crianças investigadas não são portadoras de anemias carenciais.

Tabela 3 - Média e desvio padrão dos parâmetros hematológicos das crianças com enteroparasitoses da Escola Municipal São José, Peabiru, Paraná. José, Peabiru, Paraná

Parâmetros hematológicos	Média ± D.P.*	Valor de referência
Hemácia (milhões/mm <sup>3</sup> )	4,507 ± 0,19	4,0 - 5,2 <sup>a</sup>
Hemoglobina (g/dL)	12,59 ± 1,01	> 11,5 <sup>b</sup>
Hematócrito (%)	36,85 ± 2,46	35 - 45 <sup>a</sup>
V.C.M (μ <sup>3</sup> )	81,7 ± 2,93	77 - 95 <sup>a</sup>
H.C.M (pg)	27,91 ± 1,47	25 - 33 <sup>a</sup>
R.D.W. (%)	12,95 ± 0,56	11,6 - 14 <sup>a</sup>
Total Leucócitos (mm <sup>3</sup> )	7.555 ± 2.484,9	5.000 - 13.00 <sup>a</sup>
Plaquetas (mil/mm <sup>3</sup> )	260,6 ± 67,16	180 - 400 <sup>a</sup>
Ferro Sérico (μg/dL)	80,8 ± 12,43	50,28 - 128,5 <sup>a</sup>
Vitamina B12 (pg/mL)	455,34 ± 163,85	180 - 900 <sup>a</sup>
Ácido Fólico (ng/mL)	20,51 ± 2,69	> 3 <sup>a</sup>

\*D.P.: Desvio Padrão

<sup>a</sup> Valor de referência, segundo Lewis<sup>(33)</sup>

<sup>b</sup> Valor de referência, segundo a Organização Mundial de Saúde<sup>(13)</sup>

Uma criança apresentou eosinofilia e a mesma encontrava-se parasitada por *Giardia lamblia*. Outra apresentou leucocitose, estando parasitada por *Entamoeba coli*, um parasito classificado como não patogênico; ainda assim, sua presença gerou uma reação inflamatória, responsável pela leucocitose observada.

## DISCUSSÃO

Diversas pesquisas parasitológicas com alunos de escolas públicas já foram realizadas no Brasil. No presente estudo, a frequência de enteroparasitoses nas crianças avaliadas foi relativamente baixa (16,4%). Boeira et al.<sup>(14)</sup> encontraram na cidade de Cascavel, Paraná, uma ocorrência de 36,8% de enteroparasitoses em crianças. Já Osaki

et al.,<sup>(15)</sup> em uma creche de Guarapuava, Paraná, constataram que 31,7% das crianças estavam parasitadas. Na mesma cidade relatou-se que 75,3% das crianças de sete comunidades escolas estavam contaminadas por algum enteroparasito.<sup>(15)</sup> Em Campo Florido, no estado de Minas Gerais, a frequência observada em escolares foi de 59,7%.<sup>(16)</sup>

O percentual de resultados negativos (83,6%) é muito satisfatório, entretanto este número pode não ser totalmente confiável, pois o diagnóstico pode variar de acordo com o ciclo reprodutivo dos parasitas, já que a coleta foi realizada somente em um dia ao acaso.<sup>(17)</sup> A baixa taxa de positividade não descarta as necessidades de adoção de medidas profiláticas pela comunidade.<sup>(1)</sup>

Segundo Macedo,<sup>(18)</sup> a presença dos protozoários intestinais não patogênicos *Entamoeba coli* e *Endolimax nana* não constitui agravo à saúde. Entretanto, como apresentam a mesma via de transmissão de outros enteroparasitos, sua presença nas amostras fecais representa que estas crianças se encontram em condições propícias para uma infecção por um protozoário entérico patogênico como *Entamoeba histolytica* ou *Giardia lamblia*. Diante do exposto, nota-se que as crianças investigadas vivem em condições higiênico-sanitárias precárias, pois a transmissão destes micro-organismos, na maioria das vezes, ocorre por alimentos e/ou água contaminados.<sup>(19)</sup>

Na cidade de Cascavel, Paraná, Boeira et al.<sup>(14)</sup> encontraram *Endolimax nana* como principal protozoário nas amostras analisadas, seguido de *Balantidium coli*. Em estudo realizado com escolares do município de Campo Florido, Minas Gerais,<sup>(16)</sup> o parasito encontrado com maior frequência nas amostras analisadas foi *Giardia lamblia* (30,5%), da mesma forma como o obtido na presente pesquisa. *Giardia lamblia* é a causa mais comum de diarreia em crianças e sua presença pode estar diretamente relacionada aos hábitos de higiene pessoal.<sup>(20)</sup>

Em um levantamento parasitológico com crianças da rede pública do município de Cachoeiro de Itapemirim, Espírito Santo, 57,2% das meninas encontravam-se parasitadas, dado este similar ao encontrado neste trabalho.<sup>(21)</sup> Entretanto, em um estudo envolvendo crianças de 4 a 12 anos de uma creche de Anápolis, Goiás, observou-se maior contaminação nas crianças do gênero masculino (54,9%).<sup>(22)</sup> No inquérito parasitológico realizado em escolas da rede pública municipal de Paracatu, Minas Gerais, a maior prevalência foi registrada na faixa etária de 8 a 9 anos.<sup>(18)</sup>

Programas de controle e educação para a melhoria de qualidade de vida destas pessoas devem ser incentivados, uma vez que a falta de informação associada à falta de estudos pode estar relacionada com a predisposição para a infecção por parasitas intestinais.<sup>(2)</sup> Esta informação reforça o achado de que a falta de estudos

representa um fator de risco para o surgimento das infecções parasitárias.

Figueiredo e Querol<sup>(23)</sup> ressaltam que o parasitismo intestinal de animais domésticos, como cães e gatos, tem grande importância na saúde pública, pois muitos destes parasitos apresentam potencial zoonótico. Segundo Zaiden et al.,<sup>(17)</sup> os cuidados pessoais como lavar as mãos e cortar as unhas são medidas básicas e necessárias para uma boa saúde, pois evitam a contaminação e transmissão de parasitos entre crianças.

Além disso, a água pode ser uma fonte de contaminação, representando um fator de risco caso não possua condições ótimas de qualidade.<sup>(24)</sup> Esta informação confirma os achados de risco de infecção da presente pesquisa.

Em estudo realizado com crianças matriculadas em creches e escolas municipais foram encontrados 48,1% de contaminação nos escolares da área rural de Rolândia, Paraná,<sup>(25)</sup> e 21,9% nas crianças de Bambuí, Minas Gerais.<sup>(26)</sup>

Poucos trabalhos atuais têm relacionado a presença das enteroparasitoses às anemias carenciais. Na década de 80, Monteiro, Szarfarcia e Mondinib<sup>(27)</sup> encontraram crianças anêmicas após um estudo no município de São Paulo e observaram que a origem das anemias era por carência nutricional, não havendo correlação com as parasitoses intestinais diagnosticadas. Neste mesmo período, Hercberg et al.,<sup>(28)</sup> ao trabalharem com 586 pessoas de uma aldeia rural de um distrito sul-africano, não encontraram associações significativas entre anemia e parasitoses intestinais.

Conforme pesquisa realizada por Tsuyuoka et al.<sup>(29)</sup> com 360 alunos de uma escola de ensino fundamental de Aracaju (SE), observou-se que não há indícios que comprovem a relação de enteroparasitoses com anemias, porém as crianças parasitadas apresentavam estados nutricionais mais debilitados quando comparadas às saudáveis.<sup>(29)</sup>

Em 2005, Pezzi et al.<sup>(30)</sup> também não encontraram relação entre parasitoses e anemias quando avaliaram 92 crianças de 4 a 14 anos de uma escola pública do município de Caxias do Sul (RS). Todos os trabalhos expostos corroboram com o obtido na presente pesquisa.

Já Silva et al.,<sup>(6)</sup> ao investigarem 181 crianças com idades entre 5 e 12 anos, relataram casos de anemias carenciais devido à presença de parasitos intestinais, principalmente *Giardia lamblia*. Analisando os índices hematimétricos e a dosagem de ferro, as anemias foram classificadas como ferropriva, anemia carencial mais comum na infância.

Os resultados obtidos na presente pesquisa podem ser justificados pelo fato de que a escola estudada oferece às crianças educação em tempo integral, seis alimen-

tações diárias, acompanhadas de frutas, leguminosas, carnes e carboidratos. A mesma conta com o apoio financeiro de uma instituição italiana da igreja católica e faz parte do Programa Nacional de Alimentação Escolar, o qual realiza uma suplementação na alimentação diária dos alunos. Além disso, possui profissionais da saúde em seu quadro de funcionários, como uma nutricionista, que monta um cardápio diário, visando, dentro das possibilidades e disponibilidade dos alimentos, fornecer uma alimentação saudável e rica em nutrientes; psicólogo, assistente social e técnico em enfermagem. Um padre acompanha, junto com a diretora, o andamento das atividades escolares e o desempenho das crianças.

Eosinofilia, independente da fisiopatologia, representa o aumento plasmático de eosinófilos. Estes são leucócitos, granulócitos presentes no sangue em pequenas quantidades (cerca de 3%), com capacidade de fagocitar células bacterianas e demais agentes infecciosos que aparecerem no organismo. Sua principal função é a exocitose, liberação da PBM (proteína básica maior), que é tóxica para os parasitos, resultando na morte dos mesmos.<sup>(31)</sup>

Uma triagem parasitológica envolvendo 1.598 crianças de 0 a 10 anos de Goiânia, GO identificou *Giardia lamblia* em 59,4% das amostras analisadas. As crianças também apresentaram eosinofilia, da mesma forma como a presente pesquisa, confirmando-se a hipótese da relação entre giardíase e eosinofilia.<sup>(31)</sup>

Autores correlacionam a giardíase com a eosinofilia, já que este protozoário causa hipersensibilidade no local em que se aloja, desencadeando um processo inflamatório no qual ocorre a produção das imunoglobulinas (Ig) A e E. Estas, por sua vez, promovem a ativação de células efectoras, os eosinófilos, que identificam o corpo estranho e estimulam o processo de citotoxicidade, na qual os anticorpos eliminam o patógeno.<sup>(31)</sup>

A leucocitose é caracterizada pelo aumento dos leucócitos totais, acima de 11.600/mm<sup>3</sup>, não é uma patologia, mas sim uma resposta do organismo frente a situações como estresse fisiológico, falta de alimentação, esforço físico prolongado, processos inflamatórios, doenças metabólicas e infecções microbianas. Como os parasitos entéricos são patogênicos ao hospedeiro, estes micro-organismos fazem parte da classe de agentes estimuladores da reação inflamatória, a qual culmina na elevação dos leucócitos circulantes.<sup>(32)</sup>

## CONCLUSÕES

As crianças investigadas apresentaram baixa prevalência de enteroparasitoses e nenhum tipo de anemia nutricional. A falta de estudos dos pais é um fator que contribui para o desenvolvimento das infecções para-

sitárias. Devem ser mantidos os hábitos de higiene das crianças e de seus familiares, evitando assim reinfecções ou transmissões das enteroparasitoses. Todas as crianças participantes deste estudo receberam os laudos dos exames realizados para que, se necessário, pudessem ser submetidas à terapia medicamentosa.

### Abstract

**Objective:** To determine the prevalence of intestinal parasites, possible risk factors for this infection and its relation with haematological disorders in children from a public school in the city of Peabiru, PR. **Methods:** Fecal examinations were performed in 67 children and blood count, dosage of serum iron, vitamin B12 and folic acid in children who were diagnosed positive for intestinal parasites and were granted permission by parents or guardians to participate in the research. **Results:** The prevalence of intestinal parasites was 16.4% and the studied children did not show any type of anemia, only leukocytosis and eosinophilia. **Conclusion:** Shares of health education should be kept to prevent reinfection or transmission of intestinal parasites.

### Keywords

Parasitic diseases; Hematologic diseases; Nutritional anemias

## REFERÊNCIAS

- Kunz JMO, Vieira AS, Varvakis T, Gomes GA, Rossetto AL, Bernardini OJ, et al. Parasitas intestinais em crianças de escola municipal de Florianópolis, SC - Educação ambiental e em saúde. *Biotemas*. 2008;21(4):157-62.
- Seger J, Souza WM, Marangoni JCF, Maschio VJ, Chielli EO. Prevalência de parasitas intestinais na população do Bairro Salete, município de São Miguel do Oeste, SC. *Unesc & Ciência - ACBS*. 2010;1(1):53-6.
- Gomes RP, Silva SC, Matos A. Fatores condicionantes de parasitoses intestinais em crianças de 1 a 8 anos de idade. *Ciencianews*, 2006. Acesso em: 30 de março de 2011.
- Rey L. Bases da parasitologia médica. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
- Bellin M, Grazziotin NA. Prevalência de Parasitos Intestinais no Município de Sananduva/RS. *NewsLab*. 2011;18(104):116-22.
- Silva DM da, Alves LAAR, Villela DC, Souza PRK de. Incidência de Helmintíases em crianças com idades entre quatro e seis anos, residentes na Comunidade Jardim Santo André. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*. 2008;16:18-25.
- Cantos GA, Dutra RL, Koerich JPK. Ocorrência de anemia ferropriva em pacientes com enteroparasitoses. *Saúde Rev*. 2004;5:43-8.
- Lodo M, Oliveira CGB de, Fonseca ALA, Caputto LZ, Packer MLT, Valenti VE, Fonseca FLA. Prevalência de enteroparasitas em município do interior paulista. *Rev. bras. crescimento desenvolv. hum.* 2010;20(3):769-77.
- IBGE Cidades - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php>>. Acesso em: 02/10/2015.
- Hoffmann WA, Pons JA, Janer JL. The sedimentation concentration method in Schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico J. Publ. Health & Trop. Med.* 1934;9: 283-98.
- Faust EC, Sawitz W, Tobie J, Odom V, Peres C, Lincicome DR. Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of protozoa and helminths in feces. *J Parasit* 1939; 25:241-62.
- Moraes RG. Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrogiloidose no Brasil. *Revista do Serviço Especial de Saúde Pública*. 1948;1: 507-624.
- World Health Organization. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005: WHO Global Database on Anaemia. Geneva: 2008.
- Boeira VL, Gonçalves PARR, Moraes FG, Schaedler VM. Educação em saúde como instrumento de controle de parasitoses intestinais em crianças. *Revista Varia Scientia*. 2009;9(15):35-43.
- Osaki SC, Moura AB, Zulpo DL, Calderon FF. Enteroparasitas em alfaves (*Lactuca sativa*) comercializadas na cidade de Guarapuava (PR). *Ambiência- Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais*. 2010;6(1):89-96.
- Ferreira P, Lima MR, Oliveira FB, Pereira MLM, Ramos LBM, Marçal MG, et al. Ocorrência de parasitas e comensais intestinais em crianças de escola localizada em assentamento de sem-terras em Campo Florido, Minas Gerais, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36(1):109-11.
- Zaiden MF, Santos BMO, Cano MAT, Nascif LA. Epidemiologia das parasitoses intestinais em crianças de creches de Rio Verde-Go. *Medicina*. (Ribeirão Preto). 2008 abr-jun;41(2):182-7.
- Macedo HS. Prevalência de parasitos e comensais intestinais em crianças de escolas da Rede Pública Municipal de Paracatu (MG). *RBAC*. 2005;37(4):209-13.
- Teixeira ML, Flores RE, Fuentefria AM. Prevalência de enteroparasitas em crianças de uma creche na cidade de Concórdia, Santa Catarina, Brasil. *NewsLab*, 2006. Disponível em: <<http://www.newslab.com.br/newslab/pdf/artigos78/art01/art01.pdf>>. Acesso em: 8 de setembro de 2012.
- Gomes RP, Silva SC, Matos A. Fatores condicionantes de parasitoses intestinais em crianças de 1 a 8 anos de idade. *Educação e Prevalência*. *Ciencianews*, 2006. Disponível em: <<http://www.ciencianews.com.br/revistavirtual/artrenatogomes.pdf>>. Acesso em: 30 mar. 2012.
- Castro AZ, Viana JDC, Penedo AA, Donatele DM. Levantamento das parasitoses intestinais em escolares da Rede Pública na Cidade de Cachoeiro de Itapemirim - ES. *NewsLab*, 2004. Disponível em: <[http://www.newslab.com.br/ed\\_anteriores/63/parasitoses61.pdf](http://www.newslab.com.br/ed_anteriores/63/parasitoses61.pdf)>. Acesso em: 6 de setembro de 2012.
- Batista Filha AJA. Estudo das parasitoses em crianças de 4 a 12 anos em uma creche no município de Anápolis-Go. In: *Anais do IX Seminário de Iniciação Científica, VI Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação e Semana Nacional de Ciência e Tecnologia*, 2011, Anápolis.
- Figueiredo MAO, Querol E. Levantamento das parasitoses intestinais em crianças de 4 a 12 anos e funcionários que manipulam o alimento de um centro socioeducativo de Uruguaiana, RS, Brasil. *Revista Biodiversidade Pampeana Uruguaiana*. v. 9, n.1, p. 3-11, 2011. Disponível em: <<http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/biodiversidadepampeana/article/view/7763/7646>>.
- Costa SS, Silva BFP, Moraes AFC, Wanderley FS. Ocorrência de parasitas intestinais em material subungueal e fecal em crianças de uma creche no município de Maceió - Alagoas. *Pediatria*. 2009;31(3):198-203.
- Giraldi N, Vidotto O, Navarro IT, Garcia JL. Enteroparasitas prevalence among daycare and elementary school children of municipal schools, Rolândia, PR, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001 Jul-Aug;34(4):385-7. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v34n4/5423.pdf>>
- Rocha RS, Silva JG, Peixoto SV, Caldeira RL, Firmo JOA, Carvalho OS, Katz N. Avaliação da esquistossomose e de outras Parasitoses intestinais, em escolares do município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2000;33 (5):431-6.
- Monteiro CA, Szarfarc SC, Mondinib L. Tendência secular da anemia na infância na cidade de São Paulo (1984-1996). *Rev Saúde Pública*. 2000;34(6 Supl):62-72.

28. Hercberg S, Chauliac M, Galán P, Devanlay M, Zohoun I, Agboton Y, et al. Relationship between anaemia, iron and folacin deficiency, haemoglobinopathies and parasitic infection. *Hum Nutr Clin Nutr.* 1986 Sep;40(5):371-9.
29. Tsuyuoka R, Bailey JW, Nery Guimarães AM, Gurgel RQ, Cuevas LE. Anemia and intestinal parasitic infections in primary school students in Aracaju, Sergipe, Brazil. *Cad Saude Publica.* 1999 Apr-Jun;15(2):413-21
30. Pezzi NC, Tavares RG. Relação de aspectos sócio-econômicos e ambientais com parasitoses intestinais e eosinofilia em crianças da Enca, Caxias do Sul-RS. *Estudos.* 2007 nov./dez;34(11/12):1041-55.
31. Melo-Reis PR de, Diniz-Filho JAF, Dias-Penna KGB, Costa SHN, Mesquita MM de, Silva JB da, Castro F de S, Chen LC. Correlação entre eosinofilia e proto parasitose por *Giardia lamblia* em crianças. *RBAC.* 2007;39(3):237-9.
32. Nascimento M de LP. Leucocitoses Leves e Moderadas. *NewsLab.* 84:156-174, 2007.
33. Lewis SM, Bain BJ, Bates I. *Hematologia Prática de Dacie e Lewis.* 9a ed. Porto Alegre, Artmed, 2006.

---

Correspondência

**Mariana F. Pavanelli**

*Faculdade Integrado de Campo Mourão*

*Rodovia BR 158, KM 207*

*Campo Mourão, PR, Brasil*



# Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS  
Brazilian Journal of Clinical Analysis

ISSN - Versão Online  
ISSN 0370-369-x - Versão Impressa

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* [RBAC], criada em 1969, é o órgão oficial de divulgação científica da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas [SBAC]. A RBAC tem circulação trimestral e seus artigos estão indexados no LILACS [Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde].

### NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* [RBAC] é publicada em português e inglês e é dedicada à divulgação de pesquisa científica de qualidade metodológica reconhecida, relacionada às várias áreas das análises clínicas e da patologia clínica veterinária.

Ao submeter o original do manuscrito, os autores assumem a responsabilidade do manuscrito não ter sido previamente publicado e nem estar sendo simultaneamente analisado por outro periódico, quer na íntegra ou parcialmente, excetuando-se resumos ou relatórios preliminares publicados em anais de reuniões científicas. Todos os autores deverão assinar e encaminhar a Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais, assumindo formalmente a autoria pelo manuscrito e oficializando a cessão do copyright. A declaração assinada deverá ser remetida sob a forma de documento em ".pdf". As opiniões, asserções e conclusões emitidas nos manuscritos, bem como a veracidade das informações e citações bibliográficas são de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es).

Os autores deverão declarar no manuscrito qualquer potencial conflito de interesse, incluindo aqueles de natureza política e financeira. O documento formal de conflito de interesse é a Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais mencionada acima.

Os autores deverão declarar todas as fontes de financiamento ou suporte público ou privado recebidas para a realização do estudo. No caso de estudos realizados sem recursos financeiros, da mesma forma, os autores deverão declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

Quando a investigação envolver seres humanos, a publicação do manuscrito estará condicionada ao cumprimento irrestrito das diretrizes normativas do Conselho Nacional de Saúde [CNS] e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa [CONEP]. A declaração de que os procedimentos seguidos nos experimentos estão em consonância com os princípios éticos aceitos pelas normativas nacional (Resolução CNS 196/96) 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], Netherlands 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" ou ".tif" e até 3 autores e três referências que não deverão ser citadas no texto. As imagens deverão conter título descritivo. O texto deverá conter um máximo de 300 palavras com ênfase na caracterização das figuras. Agradecimentos não deverão ser declarados.

**CARTA AO EDITOR:** correspondências de conteúdo científico com comentários, discussões ou críticas a artigos recentes (dois números anteriores) publicados na *Revista Brasileira de Análises Clínicas* ou ainda com relatos de pesquisas originais, achados técnico-científicos significativos, opiniões qualificadas sobre um tema específico das análises clínicas, bem como menções ou obituários de personalidades da área da saúde e análises clínicas onde deverá ser destacado seu perfil científico e sua contribuição acadêmica e profissional. Os autores de artigos originais citados por terceiros serão convidados a responder aos comentários e críticas a eles dirigidos. Nesta categoria, o texto tem formato livre, mas não deverá exceder 500 palavras e 5 referências.

**EDITORIAIS:** escritos a convite do editor, sob tema específico, mas considerando a área de enfoque da *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. Deverão conter um máximo de 2000 palavras e até 10 referências bibliográficas. Não serão aceitos editoriais enviados espontaneamente.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* avalia manuscritos para publicação em português e inglês. Manuscritos em português devem estar em consonância com a norma culta. A submissão de manuscritos em inglês é **enfaticamente** estimulada pelo Conselho Editorial. Quando neste idioma, recomenda-se a revisão por profissional que tenha o inglês como primeira língua e que, preferencialmente, esteja 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
<b>Título Completo</b> <i>Incluir versão em Inglês</i>	<b>Complete Title</b> Incluir versão em Português
<b>Título Corrido</b> <i>Incluir versão em Inglês</i>	<b>Running Title</b> Incluir versão em Português
<b>Autores</b>	<b>Authors</b>
<b>Resumo</b> <i>Incluir versão em Inglês</i>	<b>Summary</b> Incluir versão em Português
<b>Palavras-Chaves</b> <i>Incluir versão em Inglês</i>	<b>Keywords</b> Incluir versão em Português
<b>Introdução</b>	<b>Introduction</b>
<b>Material e Métodos</b>	<b>Material and Methods</b>
<b>Ética</b>	<b>Ethics</b>
<b>Resultados</b>	<b>Results</b>
<b>Discussão</b>	<b>Discussion</b>
<b>Conclusão</b>	<b>Conclusion</b>
<b>Conflito de interesse</b>	<b>Conflicts of Interests</b>
<b>Suporte Financeiro</b>	<b>Funding Sources</b>
<b>Agradecimentos</b>	<b>Acknowledgements</b>
<b>Referências</b>	<b>References</b>

**TÍTULO COMPLETO:** Deverá ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho. Recomenda-se iniciar pelo termo que representa o aspecto mais relevante da pesquisa com os demais termos em ordem decrescente de importância. O título não deverá conter nenhuma abreviatura e os nomes das espécies ou palavras em latim deverão vir em letras minúsculas (excetuando-se, quando for o caso, a primeira letra da palavra) e em itálico.

**TÍTULO CORRIDO:** Deverá ser resumido e conter a ideia central do trabalho.  
**AUTORES:** Os nomes completos dos autores por extenso, graus acadêmicos e filiação institucional deverão ser mencionados. O nome completo, endereço profissional, telefone e e-mail do autor responsável pelo manuscrito deverá ser especificado.

**RESUMO:** Deverá ser redigido de forma impessoal, bem como ser conciso e claro, pondo em relevo, de forma precisa, os fatos de maior importância encontrados e as conclusões obtidas. Deverá ser elaborado ainda de forma estruturada, contendo introdução, objetivos, material e métodos, resultados, discussão e conclusões. Referências não deverão ser citadas e o emprego de acrônimos e abreviaturas deverá ser limitado.

**PALAVRAS-CHAVE:** Deverão ser indicados termos que permitam a identificação do assunto tratado no trabalho. As palavras-chaves deverão ser extraídas do vocabulário DeCS [Descritores em Ciências da Saúde], elaborado pela Bireme, e/ou MeSH [Medical Subject Headings], elaborado pelo NLM [National Library of Medicine]. Os vocabulários DeCS (<http://decs.bvs.br/>) e MeSH (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>) deverão ser consultados, pois nenhuma outra palavra-chave será aceita.

**INTRODUÇÃO:** Deverá apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto. Nesta seção, as citações deverão ser restringidas ao mínimo necessário. A introdução não deverá incluir ainda dados ou conclusões do trabalho em referência. O último parágrafo deverá expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do resumo.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Deverão ser apresentados de forma breve, porém suficiente para possibilitar a reprodução e replicação do trabalho. Nesta seção, deverão ser informados o desenho experimental e o material envolvido, bem como deverá ser feita a descrição dos métodos utilizados. Métodos já publicados, a menos que tenham sido extensamente modificados, deverão ser referidos apenas por citação. Fontes de reagentes e equipamentos (empresa, cidade, estado e país) deverão ser mencionados. Nomes que são marcas registradas deverão ser também, claramente, indicados. Para melhor leitura e compreensão, subtítulos poderão ser estabelecidos.

**ÉTICA:** Nesta seção, deverá ser declarado, textualmente, o cumprimento da legislação, quando estudos com seres humanos ou animais forem procedidos. Deverá ser mencionado também a aprovação do Comitê de Ética correspondente da instituição a qual pertencem os autores responsáveis pelos experimentos, inclusive, informando, claramente, o número do parecer. O Corpo Editorial da Revista poderá recusar artigos que não cumpram rigorosamente os preceitos éticos da pesquisa.

**RESULTADOS:** Deverão ser apresentados em sequência lógica e com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal e acompanhados de gráficos, tabelas, quadros e ilustrações. Os dados constantes nesses elementos gráficos, no entanto, não deverão ser repetidos integralmente no texto, evitando-se, desse modo, superposições. Apenas as informações mais relevantes deverão ser transcritas e enfatizadas.

**DISCUSSÃO:** Deverá ficar restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, procurando, sempre que possível, uma correlação com a literatura da área. Não deverá ser incluída uma revisão geral sobre o assunto. A repetição de resultados ou informações já apresentadas em outras seções, bem como especulações que não encontram justificativa para os dados obtidos deverão ser evitadas.

**CONCLUSÕES:** Deverão ser concisas, fundamentadas nos resultados e na discussão, contendo deduções lógicas e correspondentes aos objetivos propostos. Em alguns casos, poderá ser incluída no item discussão, não havendo necessidade de repeti-la em item a parte.

**CONFLITOS DE INTERESSE:** Deverá ser informada, de maneira explícita, por todos os autores, a existência ou não de conflitos de interesse que podem derivar do trabalho. Não havendo conflitos de interesse, deverá ser escrito "Não há conflitos de interesse".

**SUPORTE FINANCEIRO:** Deverão ser informados todos os tipos de apoio, fomento ou financiamento obtidos para a realização do projeto de pesquisa.

**AGRADECIMENTOS:** Deverão ser curtos, concisos e restritos àquelas pessoas e/ou instituições que colaboraram com auxílio técnico e/ou recursos. No caso de órgãos de fomento, não deverão ser utilizadas siglas.

**TABELAS:** O título deverá ser breve e descritivo, apresentando de maneira precisa seu conteúdo e o contexto (ou amostra) a partir do qual a informação foi obtida. Deverá estar ainda inserido na parte superior da ilustração e ser precedido pela palavra "Tabela", seguida por um número identificador em algarismos arábicos. A numeração das tabelas deverá ser feita consecutivamente, a partir da ordem de citação no texto. Serão permitidas notas explicativas de rodapé (legendas), indicadas por asteriscos e dispostas ao final da tabela. Para notas

de rodapé, deverá ser utilizado algarismos romanos. As tabelas deverão ser elaboradas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e em sua parte inferior e sem linhas verticais. Não deverão ser utilizadas também linhas horizontais internas. Os dados das tabelas deverão ser digitados em tamanho 10 e com minúsculas, excetuando-se as letras do início das palavras e as siglas. Nas tabelas, deverá ser empregado espaçamento entrelinhas 1,5, sem qualquer forma de tabulação ou recuos de parágrafos. O comprimento da tabela não deverá exceder 55 linhas, incluindo título, e apresentar largura máxima de 17cm. Os dados apresentados em tabelas não deverão ser repetidos em gráficos. As tabelas deverão ser compostas em programa Word ou MS-Excell e enviadas em arquivo separado. Deverá ser evitado um número excessivo de tabelas.

**FIGURAS:** Todas as ilustrações que não se enquadram no conceito de tabela são consideradas figuras, portanto: quadros, gráficos, desenhos, imagens e fotografias. Deverão ter um título breve e descritivo, disposto em sua parte inferior. Deverão ainda ser numeradas com algarismos arábicos, consecutivamente, na ordem de aparecimento no texto e citadas como figuras. As figuras deverão ter boa resolução (mínimo de 300 dpi), ser gravadas em formato ".jpg" ou ".tif" e medir no mínimo 12 x 17cm e no máximo 20 x 25cm. As escalas deverão ser indicadas por uma linha ou barra na figura e referenciadas, se necessário, na legenda. Os gráficos deverão ser preparados nos programas Microsoft Word ou MS-Excell em formato ".doc", ".docx" ou ".xls" e não como imagem. Figuras 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 Biomédicas] 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](http://www.scielo.br/pdf/rcbc/v35n6/v35n6a14.pdf) (Versão em Português) ou em [www.icmje.org/urm\\_full.pdf](http://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 apóstrofes 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<sup>(26)</sup> mudaram a denominação do fungo para *Hortaea werneckii*, em homenagem a Parreiras Horta.

• **Mais de dois autores:** Giannopoulos et al.<sup>(32)</sup> 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,<sup>(17)</sup> 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,<sup>(5)</sup> 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.<sup>(14)</sup>

**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. Paracoccidiodomycosis. *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:** Dettken 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 Pentead MV. *Vigilância Sanitária: tópicos sobre legislação e análise de alimentos*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2007. p. 72-80.

• **Responsabilidade 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 União 13 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. Congresso Virtual de Micología de Hongos Patógenos em América Latina [evento na internet]. 2003 27jun-14jul; Caracas, Venezuela [acesso em 10 jul 2003]. Disponível em: <http://congresomicologia.ucv.ve>.

A tramitação de manuscritos será feita exclusivamente online pelo **Sistema de Gestão de Publicações (SGP)**, no endereço: [www.sgponline.com.br/rbac/sgp](http://www.sgponline.com.br/rbac/sgp). Outras formas de submissão, não serão aceitas.

#### Observações Gerais:

• A comunicação entre os diferentes participantes do processo editorial de avaliação e publicação (autores, revisores e editor) será feita apenas de forma eletrônica pelo SGP, sendo o autor responsável pelo manuscrito informado automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status;

• Apenas o autor responsável pelo manuscrito deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema e posterior acesso por meio de *login* e senha;

• A RBAC comunicará individualmente, por e-mail, a cada autor a sua participação no manuscrito. Caso um dos autores não concorde com sua participação, o manuscrito será recusado;

• O SGP atribuirá a cada manuscrito um número de registro e o autor principal será notificado de que o manuscrito está completo e apropriado para iniciar o processo de revisão;

• Pedidos de *fast-track* poderão ser considerados desde que justificados e solicitados por orientadores e/ou coordenadores de programas de pós-graduação ou responsáveis por departamentos, laboratórios, setores ou serviços de instituições públicas ou privadas ou ainda se rigorosamente fundamentados por seus autores. Os pedidos de *fast-track* deverão vir endereçados ao editor da RBAC em documento em papel timbrado da instituição e carimbado por seus superiores hierárquicos.

#### MODELO DE DECLARAÇÃO

Declaração de Responsabilidade, Conflitos de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais

Os autores abaixo assinados vimos submeter o artigo intitulado "Título do Artigo" à apreciação do Corpo Editorial da *Revista Brasileira de Análises Clínicas* - RBAC para sua publicação. Nesta oportunidade, declaramos estar de acordo com que os direitos autorais referentes ao artigo em tela tornem-se propriedade exclusiva da RBAC desde sua submissão, sendo vedada a reprodução total ou parcial, em qualquer meio de divulgação, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e concedida pela editoria da RBAC. Declaramos também que o artigo não infringe os direitos autorais ou qualquer outro direito de propriedade de terceiros e que seu conteúdo é de inteira responsabilidade dos autores. Declaramos ainda que este é um trabalho original e que não foi publicado anteriormente e nem está sendo considerado para publicação em outro periódico, tanto no formato impresso quanto no eletrônico. Os autores confirmam estar cientes e concordantes com a publicação do artigo na RBAC e afirmam não haver qualquer tipo de conflito de interesse do tema abordado no artigo com pessoas, entidades ou instituições.

Nomes dos autores e assinaturas:

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_
5. \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

# 43<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Análises Clínicas

**Integrar, inovar e empreender.**

**4<sup>o</sup> Núcleo de Gestão e Qualidade Laboratorial**

**2<sup>o</sup> Fórum de Proprietários de Laboratórios.**

**Simpósio Satélite de Micologia Clínica**

26 a 29 de Junho de 2016 no Palácio das Convenções do Anhembi - São Paulo

## Programação 43<sup>o</sup> CBAC

**Fórum Equilíbrio Econômico e Sustentabilidade dos Laboratórios abordando os temas:**  
Contratualização, Certificação digital, Ação Política da Frente Parlamentar e Ação Jurídica Coletiva de  
Desequilíbrio Econômico - 29/06/16 às 9h.

**Conferência Magna com o Prof. Dr. Amilcar Tanuri da UFRJ falando sobre o tema**  
“infecção pelo Zika Vírus” – 28/06/16 às 10:30.

**Conferência Magna com Max Gehringer falando sobre o tema:**  
Gerenciamento de Mudanças - 28/06/16 às 16:30

37 Conferências e 31 Mesas Redondas.

Atividades Extra Congresso (não incluídas na inscrição):  
Curso PNCQ Gestor, Curso de Auditores DICQ, Cursos e Mini Cursos.  
Programação Social incluindo a festa Hot Monday no dia 27/06/16 e  
Happy Hour no dia 28/06/16.

Acesse [sbac.org.br/cbac](http://sbac.org.br/cbac)  
para acompanhar a programação completa



Copromotor:



Patrocinador Ouro:



Apoio:



Organização:



Agência oficial:



Hotel Oficial:





O Laboratório DLE há três décadas se dedica a Medicina Laboratorial no Brasil.

Somos uma empresa brasileira de saúde que investe na nacionalização de exames especializados com o intuito de diminuir a busca de soluções diagnósticas para doenças raras no exterior, reduzindo assim custos e prazos, para contribuir com a melhoria da assistência à saúde.

Com uma missão bem definida, oferecemos soluções globais práticas, em análises especializadas e em informações científicas atualizadas, para atender às necessidades específicas de laboratórios farmacêuticos, operadoras, prestadores de serviços de saúde e ao cliente referenciado.

O DLE atua nas áreas de Triagem Neonatal e Pré-natal, Bioquímica Genética, Genética Molecular, Citogenômica e testes para doenças raras.

Perceba nossa diferença.

Os exames oferecidos pelo Laboratório DLE estão disponíveis em todo o Brasil. Faça contato.

Certificações/Acreditações



Participação em Programas de Proficiência

**Canal do Cliente 4020-8080**

Seg. a Sex. das 08h às 18h | Ao custo de uma ligação local.

**DLE.com.br** | (11) 5907-8181 | (21) 3299-3000