

RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas

Sumário

Desempenho de um método para detecção simultânea de antígenos e anticorpos para o vírus da Hepatite C em doadores de sangue	003
<i>Rochele Camilla Rohde Pozzobon, Sandra Trevisan Beck, Adrienne Del Fabro Ceccim</i>	
Performance of a method for detection of antigen and antibodies for the Hepatitis C virus in blood donor	
Atividade antimicrobiana de tigeciclina frente a Cocos Gram-Positivos de importância clínica de Santa Maria-RS	007
<i>Lucas Wesz, Tiago de Castro Rodrigues, Marta Duarte, Rafael Pulcinelli, Roberto Christ Vianna Santos</i>	
Antimicrobial activity of tigecycline against clinical isolates of Gram-Positive Coccus from Santa Maria - RS*	
Associação entre fibromialgia e hipotireoidismo	010
<i>Lisiane Silveira Zavalhia, Matias Nunes Frizzo</i>	
Association between fibromyalgia and hypothyroidism	
Análises laboratoriais mostram que paciente evoluiu para a doença Granulomatose de Wegener: descrição de caso	015
<i>Talita Gandolfi; Maria T. G. Lang</i>	
Analyses laboratories show that patient developed for the disease Wegener Granulomatosis: description of case	
Hemoglobina glicada como ferramenta na avaliação do controle glicêmico de pacientes	021
<i>Patrícia A. Gurgel Velasquez, Cristiane Agnes, Terezinha I. Estivalet Svidzinski</i>	
The glycated hemoglobin as an evaluation tool on glycemic control of diabetic patients	
Relato de dois casos de tinea nigra na cidade de Caxias do Sul, RS, Brasil	026
<i>Barbara C. A. Zoppas, Francieli Casal, Juliano Fracasso, Caroline U. Triaca</i>	
Report of two cases of tinea nigra in the city of Caxias do Sul, RS, Brazil	
Micoses superficiais em idosos residentes em entidade beneficente na região norte do estado do Rio Grande do Sul	029
<i>Ananda Polo, Nelva Aparecida Graziotin</i>	
Superficial mycosis in elderly people living in beneficent entity in the north of Rio Grande do Sul	
Avaliação do diagnóstico citológico cérvico-vaginal do Sistema Único de Saúde em Turvo-SC e Porto Alegre-RS	034
<i>Juliana Maragno Emerich, Andréia Buffon</i>	
Avaliation of cytologic diagnostics cervical-vaginal in the unico system of health in Turvo-SC and Porto Alegre-RS	
Incidência de fungos anemófilos do gênero aspergillus presentes no ar durante o período de reforma em ambiente hospitalar	042
<i>Andréia Gaio; Márcio L. Teixeira; Alexandre Meneghelo Fuentesria</i>	
Incidence of airborne spoilage fungi and identification from aspergillus genus present in hospital atmosphere during the period of reforms	
Perfil lipídico de idosos que residem em uma instituição filantrópica em Fortaleza (CE)	046
<i>Claudênio Diógenes Alves; Daniel Freire de Sousa; Jânio Emanuel Andrade Cavalcante; Jamile Magalhães Ferreira; Gervásio Alberto Araújo Martins; Amanda Roque Martins; Dalgimar Beserra de Menezes; Maria Goretti Rodrigues de Queiroz; Alice Maria Costa Martins</i>	
Lipidic profile of elderly living in a philanthropic institution in Fortaleza (CE)	
Prevalência de heterozigotos para hemoglobinopatias em estudantes universitários do Ceará	051
<i>Maria Luiza Quinderé Saraiva, Rita Marinei de Vasconcelos Coelho, Sônia Leite da Silva, Renato Motta Neto, Daisy Maria Meireles Arruda, Sílvia Fernandes Ribeiro da Silva</i>	
The prevalence of heterozygotes for hemoglobinopathies among undergraduate students of Ceará	
Pesquisa de β-lactamases em bactérias gram-negativas de origem comunitária e hospitalar em Campina Grande - PB	055
<i>Daniela Araújo Vilar; Patrícia Maria de Freitas e Silva; Marina S. Araújo Vilar; Heronides Silva Pereira</i>	
Search β-lactamases in gram-negative bacteria from the community and hospital Campina Grande-PB	
Prevalência de distúrbios da tireóide em pacientes climatéricas do Hospital Universitário Antônio Pedro	059
<i>Helene Nara Henriques, Maria Angélica Guzmán-Silva</i>	
Prevalence of thyroid disorders in climacteric patients of the University Hospital Antônio Pedro	
Estudo da estabilidade da acetilcolinesterase pelo Método de Ellman	063
<i>Carla Brugin Marek, Ana Maria Itinose e Gisele Neumann Zanella</i>	
Study of the stability of acetylcholinesterase by the Method of Ellman	
Ácidos nucleicos circulantes no sangue como biomarcadores de câncer gástrico	067
<i>Natália Fontana Nicoletti, Ivana Grivicich, Daniel Simon</i>	
Circulating nucleic acids in blood as biomarkers of gastric cancer	
Análise da soroprevalência de Hbsag e Anti-Hbc em doadores de sangue na região de Campo Mourão	073
<i>Hiandra Justi Vicente; Aline Paula Isolani</i>	
Analysis of seroprevalence of Hbsag and Anti-Hbc in blood donors in the region of Campo Mourão	
Avaliação do tratamento com o óleo essencial do allium sativum (alho) em pacientes parasitados	076
<i>Callandra Maria Bezerra Luna Lima, Marcilio de Oliveira Lima, Francisco Simão de Figueiredo Júnior, Marília Gabriela dos Santos Cavalcanti, Liana Clébia Soares Lima de Moraes, Francisca Inês de Sousa Freitas, Margaret de Fátima Formiga Melo Diniz</i>	
Evaluation of treatment with the essential oil of allium sativum (garlic) in patients infected	

RBAC é uma publicação da



SBAC
Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

Fascículo 01 Volume 43 Ano 2011

Desempenho de um método para detecção simultânea de antígenos e anticorpos para o vírus da Hepatite C em doadores de sangue*

Performance of a method for detection of antigen and antibodies for the Hepatitis C virus in blood donors

Rochele Camila Rohde Pozzobon^{1a}, Sandra Trevisan Beck², Adrienne Del Fabro Ceccim³

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de um ensaio imunoenzimático para detecção simultânea de antígenos e anticorpos (ELISA 4ª geração) na infecção pelo vírus da Hepatite C (HCV), em doadores de sangue. O estudo foi realizado com amostras de soro que apresentaram resultado anti-HCV reagente, indeterminado, e não reagente, pelo método de ELISA 3ª geração utilizado na rotina da triagem sorológica. As amostras foram aliqüotadas até um total de 276 e submetidas à análise num mesmo momento, através de ELISA 4ª geração. Os resultados indicaram 98,91% de concordância entre os dois métodos para os testes reagentes e não reagentes mostrando o bom desempenho do novo método. Três (1,09%) resultados indeterminados para o método de 3ª geração foram não-reagentes para o de 4ª geração, dentre os quais, um foi possível confirmar com o teste de Reação em Cadeia de Polimerase, juntamente com os resultados reagentes. Apesar de poucas amostras analisadas, isto sugere uma maior especificidade do método de 4ª geração. Maior número de amostras necessita ser testada para confirmar estes resultados. A confirmação desta maior especificidade otimizará a triagem de doadores, por diminuir a necessidade de repetição dos testes e o descarte desnecessário de bolsas de sangue.

Palavras-chave: HCV, antígenos, anticorpos, doadores de sangue, ELISA.

SUMMARY - The objective of this study was to evaluate the performance of a combined assay for the detection of hepatitis C virus core antigen and antibodies (ELISA fourth generation) in blood donors. The study was conducted on samples of serum from blood donors who had reported reagent, indeterminate, and not reagent anti-HCV result, by the method of ELISA third generation used in routine screening of antibodies. The samples were stored up to a total of 276 and analyzed at the same time, by the ELISA fourth generation. The results showed 98.91% of agreement between two methods with the positive and negative samples, showing the good performance of the new method. Three (1.09%) indeterminate results for the third generation method were non-reagents for the fourth generation, among them, one was unable to confirm with a PCR, with reagents samples. Despite a few samples, this suggests greater specificity of the reagent fourth generation. Highest number of samples needs to be tested to confirm these results. The greater specificity may possible enhances the screening of donors, reducing the need for repetition of tests and discarding of unnecessary blood unities.

Keywords: VHC, antibodies, antigen, blood donors, ELISA.

INTRODUÇÃO

Atualmente estima-se que 190 milhões de pessoas estejam infectadas pelo Vírus da Hepatite C (HCV) em todo o mundo, com cerca de 3 a 4 milhões de novas infecções a cada ano, entre as quais, 70% desenvolverão hepatite crônica¹⁸. No Brasil, a prevalência estimada de anticorpos contra o vírus da hepatite C (anti-HCV) é de 1,5% da população geral⁵.

A principal via de transmissão do HCV ocorre pelo contato com sangue contaminado, sendo considerados grupos de risco pacientes que receberam transfusão sanguínea antes da década de 90, usuários de drogas injetáveis, indivíduos promíscuos sexualmente e aqueles que utilizam práticas de tatuagem e colocação de *piercing* com material contaminado^{1,12}. O controle da transmissão por transfusão sanguínea só foi possível a partir da identificação do HCV por métodos moleculares, o que permitiu o desenvolvimento de métodos de

diagnóstico imunoenzimáticos que foram implementados nas rotinas sorológicas em bancos de sangue na década de 90, quando iniciou a detecção de indivíduos soropositivos que, conseqüentemente, foram rejeitados como doadores².

O teste sorológico para diagnóstico de hepatite C, rotineiramente utilizado em bancos de sangue, é um teste imunoenzimático (ELISA 3ª geração) para detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite C, que adquiriu maior sensibilidade e especificidade ao longo das diferentes gerações do teste. Embora esse teste seja muito sensível para rastreamento de soropositivos para HCV e tenha quase que eliminado a ocorrência de hepatite pós-transfusional, seu resultado pode mostrar-se falso-negativo. Isto acontece devido à soroconversão (presença de anticorpos detectáveis) ocorrer aproximadamente 12 semanas após a exposição inicial ao vírus. Além disso, pacientes imunossuprimidos ou imunocomprometidos podem não serem capazes de montar uma resposta imunológica sorologicamente detectável. Outra limitação desse teste é um número significativo de resultados

Recebido em 13/02/2009

Aprovado em 06/01/2011

¹ Farmacêutica Bioquímica, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, RS, Brasil.

² Profª Drª, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – UFSM.

³ Farmacêutica Bioquímica, Hemocentro Regional de Santa Maria – HRSM, RS, Brasil.

* Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – UFSM / HRSM, RS, Brasil.

dados como indeterminados, em alguns grupos avaliados chegando a 13%³.

Devido às limitações dos testes sorológicos, as técnicas de biologia molecular para a detecção direta do RNA viral, embora menos acessíveis, mais complexas e onerosas, tornaram-se uma ferramenta essencial no diagnóstico da infecção pelo HCV. Suas vantagens incluem a possibilidade do diagnóstico precoce na infecção viral aguda, diagnóstico da infecção em pacientes incapazes de montar uma resposta sorológica e confirmação da infecção ativa em situações que apresentaram resultado indeterminado⁶.

Apesar das vantagens citadas, a maioria dos bancos de sangue não possui ainda estrutura suficiente para a realização de testes moleculares, em decorrência de alto custo e complexidade do método. Com isso, houve a necessidade do desenvolvimento de um teste imunoenzimático que detectasse não só anticorpos, mas também antígenos virais circulantes, os quais aparecem precocemente na fase aguda da doença, diminuindo a chamada janela sorológica e também reduzindo o número de resultados indeterminados¹⁵. O desenvolvimento de testes imunoenzimáticos de 4ª geração, para detecção do "core" do antígeno do HCV apresenta como principal vantagem sua realização mais simples, ocorrendo em laboratórios não especializados, com diminuição de custos e a possibilidade de substituir a complexa determinação do RNA-HCV. Estudos recentes mostram uma detecção precoce do antígeno *core* na hepatite C aguda, e também uma correlação significativa entre seus níveis e aqueles do RNA-HCV nas hepatites crônicas e durante o seu tratamento^{4,17,11}.

Como a hepatite C tem uma alta porcentagem de cronicidade e grande chance de evoluir para cirrose e hepatocarcinoma, assim como o fato de ser a mais freqüente etiologia diagnosticada em casos de transplante hepático, a identificação de indivíduos que possam ser portadores, ou tenham entrado em contato com o vírus torna-se muito importante, pois constitui um grave problema de saúde pública¹⁶.

Existe uma quantidade significativa de indivíduos que desconhece sua situação de portador do HCV, e dirige-se a centros de doação de sangue. Se não detectados pela triagem sorológica dos bancos de sangue, a bolsa de sangue colhida deste indivíduo será transfundida para outra pessoa, que provavelmente se tornará portadora do vírus, sofrendo todas as conseqüências da doença.

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o desempenho de um ensaio imunoenzimático de 4ª geração, para detecção simultânea de anticorpos e antígenos do vírus da hepatite C, em indivíduos doadores de sangue.

MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) com parecer de aprovação CAAEE 0181.0.243.000-08. O estudo foi realizado com amostras de soro de doadores de sangue atendidos no Banco de Sangue do Hospital Universitário de Santa Maria

(HUSM) e no Hemocentro Regional de Santa Maria (HEMORMS).

Para selecionar as amostras a serem testadas pelo método laboratorial de 4ª geração, foram analisados os prontuários de registro de dados de doadores de sangue no período de agosto de 2007 a junho de 2008. Os soros dos doadores que apresentaram resultado anti-HCV reagente, indeterminado e não-reagente pelo método de 3ª geração (Enzygnost Anti-HCV monoclonal – Behring), no período descrito, foram alíquotados para posterior análise até um total de 276 (número de testes disponíveis pelo fabricante). Na rotina da triagem sorológica, os doadores de sangue que apresentarem resultado anti-HCV indeterminado ou reagente, são encaminhados pelo HEMORMS para o Setor de Gastroenterologia do HUSM, para realização de um teste confirmatório, neste caso a reação em cadeia de polimerase (RT-PCR).

Todas as amostras de soro foram submetidas à análise num mesmo momento, através do reagente comercial imunoenzimático de 4ª geração (Murex HCV Ag/Ac combination – Abbott) para detecção simultânea de anticorpos e antígenos do HCV em soro ou plasma, seguindo as normas do fabricante. Este reagente foi liberado para uso comercial pela ANVISA, em abril de 2007, tendo seu protocolo de realização padronizado pela empresa.

RESULTADOS

Para garantia de um bom desempenho do teste, certos parâmetros necessitam ser confirmados. Para tanto, o fabricante do reagente informa valores de absorvância a serem considerados para validação da reação. Os valores dos controles internos do reagente durante a realização deste trabalho encontram-se descritos na tabela 1.

Tabela 1 - Valores de absorvância do método de 4ª geração para validação do teste

	Absorvância (Abs)	
	Resultados Encontrados	Valores recomendados pelo fabricante
Média Controle Negativo	0,111	Abs inferior 0,250
Média Controle Positivo Ag	0,919	Abs média do CN +0,8 (mínimo 0,911)
Média Controle Positivo Ac	0,913	Abs média do CN + 0,8 (mínimo 0,911)

Antígeno (Ag), Anticorpo (Ac), Controle Negativo (CN), Absorvância (Abs)

Na tabela 2 estão correlacionados os resultados dos métodos ELISA 3ª geração e 4ª geração. Os resultados reagentes (1,45%) e não reagentes (97,46%) foram iguais para

os dois métodos, representando um total de 98,91% de concordância entre os métodos. Porém três resultados indeterminados (1,09%) para o método de 3ª geração foram não-reagentes para o de 4ª geração.

Com relação aos resultados do teste confirmatório por PCR, dos quatro pacientes com resultados reagentes no método de 3ª geração, três compareceram para realização, e o resultado foi positivo (tabela 2). O outro paciente não compareceu para realização do exame. Já entre os três pacientes com resultado indeterminado para o ELISA 3ª geração, apenas um compareceu para realização do exame de PCR, o qual foi negativo (tabela 2).

Tabela 2 - Correlação entre os resultados dos métodos de ELISA 3ª e 4ª geração e PCR nas amostras testadas (n=276) no HEMOCENTRO no período de agosto de 2007 a junho de 2008.

ELISA 3ª GERAÇÃO	ELISA 4ª GERAÇÃO		
	Reagente (n)	Não reagente (n)	Indeterminado (n)
Reagente (n)	4	0	0
Não reagente (n)	0	269	0
Indeterminado (n)	0	3*	0
Total	4*	272	0
PCR positiva	3*		
PCR negativa		1*	

* Amostras com resultado confirmado por biologia molecular.

DISCUSSÃO

A triagem sorológica para o vírus da hepatite C (HCV) nas unidades hemoterápicas do Brasil utiliza um método imunoenzimático que detecta anticorpos contra o HCV (ELISA 3ª geração). Embora este teste seja um método bastante sensível, tendo praticamente eliminado a ocorrência de hepatite pós-transfusional, seus resultados podem mostrar-se falso-negativo, devido à janela imunológica em que se encontram alguns doadores de sangue, existindo um risco residual na transmissão do HCV. As técnicas de biologia molecular, que apresentam maior sensibilidade e especificidade, apesar de constituírem uma ferramenta essencial no diagnóstico da infecção pelo HCV, são bastante complexas e onerosas⁶.

O Hemocentro regional de Santa Maria – RS, como a

maioria dos bancos de sangue do Brasil, não possui ainda estrutura suficiente para a realização de testes moleculares, em decorrência de altos custos e necessidade de profissionais altamente qualificados. Com isso, a implementação de um teste que detectasse simultaneamente anticorpos e antígenos virais circulantes, os quais aparecem precocemente na fase aguda da doença, diminuindo a janela sorológica, e também reduzindo o número de resultados indeterminados, surge como uma perspectiva positiva, já confirmada em estudos científicos^{15,13}. Outros autores¹⁰, utilizando um método semelhante para detecção de antígeno *core*, destacam a facilidade de execução e a boa relação custo-benefício, sendo adequado a rotina de laboratórios. As características citadas a cima, podem reforçar a opção de utilizar o novo método para detecção simultânea de antígenos e anticorpos nos bancos de sangue de nosso país.

Para validação dos resultados apresentados, foi realizada a validação das reações durante o procedimento técnico. Os resultados de absorbância dos controles negativos e positivos encontrados mostraram estar de acordo com o fabricante, demonstrando a eficácia na realização do método (tabela 1).

A concordância de 98,9% dos resultados reagentes e não reagentes, para ELISA 3ª e 4ª geração, mostrou o bom desempenho do novo método. Correlacionando os resultados dos dois métodos, podemos observar que o segundo reduziu o número de resultados indeterminados, conforme também foi observado em outro trabalho¹⁵, sugerindo uma melhor especificidade (tabela 2). A confirmação desta pode apenas ser verificada em um paciente que retornou para realização do teste molecular confirmatório. Uma superior especificidade do ELISA 4ª geração sobre o de 3ª, foi também comprovada em um estudo anterior⁷. Esta característica otimiza a triagem de doadores, por diminuir a necessidade de repetição dos testes e o descarte desnecessário de bolsas de sangue, reduzindo gastos desnecessários nos Bancos de Sangue.

Trabalhos demonstram que quando utilizados testes de 3ª geração, o número de resultados indeterminados, pode chegar a 13%^{8,3}. No presente estudo, foi encontrada uma frequência de 1,09% de resultados indeterminados quando utilizado o reagente de 3ª geração. A menor frequência encontrada pode ser devido ao baixo número de amostras analisadas.

Além da maior especificidade, uma alta sensibilidade quando utilizado o método de 4ª geração foi observada⁷. Outro benefício deste método é que a detecção do antígeno do *core* do HCV pode reduzir significativamente o período de janela antes da detecção do anticorpo⁴. Diversos estudos tem demonstrado que o método de 4ª geração reduz o período de janela imunológica em até 30 dias⁹. Segundo outros autores¹⁴, o ensaio de 4ª geração reduziu significativamente o período da janela, em 65% dos casos, quando comparado ao Elisa 3ª geração em pacientes com hepatite C crônica. Porém o mesmo autor salienta que esta análise não substitui a detecção do RNA do HCV, principalmente em casos agudos, onde existe uma baixa quantidade de antígenos circulantes, enfatizando que o PCR ainda é considerado padrão ouro devido sua alta sensibilidade^{13,14}. Devido ao pequeno número de amostras

testadas no presente estudo, não foi possível detectar indivíduos que se encontrassem no período inicial da infecção, onde o teste de 4ª geração poderia resultar reagente e o de 3ª geração não reagente. Em outro trabalho também não foi verificada a diminuição da janela imunológica⁷.

CONCLUSÃO

O método de 4ª geração apresentou um bom desempenho, pois além da concordância com o de 3ª geração para os resultados reagentes e não-reagentes, reduziu o número de indeterminados, sugerindo uma maior especificidade. O que diminui a necessidade de repetição dos testes e o descarte desnecessário de bolsas de sangue, apresentado uma ótima relação custo-benefício. Maior número de amostras necessita ser testada.

AGRADECIMENTOS

Aos colaboradores do Hemocentro Regional de Santa Maria – RS.

COMITE DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Aprovado pelo Comitê de Ética e Biossegurança da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, (CAEE 0181.0.243.000-08).

REFERÊNCIAS

- 1- ALTER, M. J.; MARGOLIS, H. S.; KRAWCZYNSKI, K.; JUDSON, F. N.; MARES, A.; ALEXANDER, W. J.; HU, P. Y.; MILLER, J. K.; GERBER, M. A.; SAMPLINER, R. E. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. *N. Engl. J. Med.*, 327 (27):1899-1905, 1992.
- 2- CHOO, Q. L.; KUO, G.; WEINER, A. J.; OVERBY, L. R.; BRADLEY, D. W.; HOUGHTON, M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A non-B viral hepatitis genome. *Science*, 244 (4902): 359-362, 1989.
- 3- COLIN, C.; LANOIR, D.; TOUZET, S.; MEYAUD-KRAEMER, L.; BAILLY, F.; TREPO, C. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *J. Viral Hepat.*, 8 (2): 87-95, 2001.
- 4- COUROUCÉ, A. M.; LE MARREC, N.; BOUCHARDEAU, F.; RAZER, A.; MANIEZ, M.; LAPERCHÉ, S.; SIMON, N. Efficacy of HCV core antigen detection during the preseroconversion period. *Transfusion*, 40 (10): 1198-1202, 2000.
- 5- FOCACCIA R. Prevalência das hepatites virais A, B, C e E – Estimativa da prevalência na população geral da cidade de São Paulo, medida por marcadores séricos, em amostragem populacional estratificada com sorteio aleatório e coleta de domiciliar. 1997. Tese de Doutorado – Universidade de São Paulo, São Paulo.

6- GERMER, J. J. & ZEIN, N. N. Advances in the molecular diagnosis of hepatitis C and their clinical implications. *Mayo Clin. Proc.*, 76 (9): 911-920, 2001.

7- HMAÏED, F.; BEN MAMOU, M.; ARROUJI, Z.; SLIM, A.; BEN REDJEB, S. Intérêt du dépistage combine de l'antigène de capside et des anticorps du virus de l'hépatite C dans La réduction de la fenêtre sérologique. *Path. Biol.*, 55 (2): 121-126, 2007.

8- KRAJDEN, M. Hepatitis C virus diagnosis and testing. *Can. J. Public. Health*, 91 (1): 34-39, 2000.

9- LAPERCHÉ, S.; LE MARREC, N.; GIRAULT, A.; BOUCHARDEAU, F.; SERVANT-DELMAS, A.; MANIEZ-MONTREUIL, M.; GALLIAN, P.; LEVAYER, T.; MOREL, P.; SIMON, N. Simultaneous Detection of Hepatitis C Virus (HCV) Core Antigen and Anti-HCV Antibodies Improves the Early Detection of HCV Infection. *J. Clin. Microbiol.*, 43 (8): 3877-3883, 2005.

10- MEDHI, S.; POTUKUCHI, S. K.; POLIPALLI, S. K.; SWARGIARY, S. S.; DEKA, P.; CHAUDHARY, A.; BEGUM, N.; HUSSAIN, Z.; AHLAWAT, R. S.; KAR, P. Diagnostic utility of hepatitis C virus core antigen in hemodialysis patients. *Clin. Biochemistry*, 41 (7-8): 447-452, 2008.

11- NUBLING, C. M.; UNGER, G.; CHUDY, M.; RAI, S.; LÖWER, J. Sensitivity of HCV core antigen and HCV RNA detection in the early infection phase. *Transfusion*, 42 (8): 1037-1045, 2002.

12- OHTO, H.; TERAZAWA, S.; SASAKI, N.; HINO, K.; ISHIWATA, C.; KAKO, M.; UJIE, N.; ENDO, C.; MATSUI, A. Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants. The vertical transmission of hepatitis C virus collaborative study group. *N. Engl. J. Med.*, 330 (11): 744-750, 1994.

13- SCHNURIGER, A.; DOMINGUEZ, S.; VALANTIN, M. A.; TUBIANA, R.; DUVIVIER, C.; GHOSN, J.; SIMON, A.; KATLAMA, C.; THIBAUT, V. Intérêt d'un nouveau test combine antigène-anticorps pour le dépistage de l'infection par le virus de l'hépatite C: réduction de la fenêtre sérologique au cours de l'hépatite C aiguë chez le sujet co-infecté par HIV. *Path. Biol.*, 54 (10): 578-586, 2006.

14- SCHNURIGER, A.; DOMINGUEZ, S.; VALANTIN, M. A.; TUBIANA, R.; DUVIVIER, C.; GHOSN, J.; SIMON, A.; KATLAMA, C.; THIBAUT, V. Early detection of hepatitis C virus infection by use of a new combined antigen-antibody detection assay: potential use for high-risk individuals. *J. Clin. Microbiol.*, 44 (4): 1561-1563, 2006.

15- SHAH, D. O.; CHANG, C. D.; JIANG, L. X.; CHENG, K. Y.; MUERHOFF, A. S.; GUTIERREZ, R. A.; LEARY, T. P.; DESAI, S. M.; BATAK-HERMAN, I. V.; SALBILLA, V. A.; HALLER, A. S.; STEWART, J. L.; DAWSON, G. J. Combination HCV core antigen and antibody assay on a fully automated chemiluminescence analyzer. *Transfusion*, 43 (8): 1067-1074, 2003.

16- STRAUSS, E. Hepatite C. *Rev. Soc. Bra. Med. Trop.*, 34 (1): 69-82, 2003.

17- TANAKA, E.; OHUE, C.; AOYAGI, K.; YAMAGUCHI, K.; YAGI, S.; KIYOSAWA, K.; ALTER, H. J. Evaluation of a new enzyme immunoassay for hepatitis C virus (HCV) core antigen with clinical sensitivity approximating that of genomic amplification of HCV RNA. *Hepatology*, 32 (2): 388-393, 2000.

18- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Hepatitis C – global prevalence (update). *Wkly. Epidemiol. Rec.*, 75:17-28, 2008.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Rochele Camila Rohde Pozzobon

chelerohde@yahoo.com.br,

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

Centro de Ciências da Saúde – Prédio 26 – Sala 1132 – UFSM,

Campus Camobi 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

TEAC

Titulo de Especialista em Análises Clínicas

A SBAC informa que o 73º Concurso para Outorga do TEAC - Título de Especialista em Análises Clínicas - em 25/06/2011 (sábado) de 08 às 12h (Prova Escrita/Slide) e 26/06/2011 (domingo) a partir das 08 horas (Prova Oral), durante o 38º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas e 11º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica, na cidade de Curitiba – PR

Para os inscritos no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, a SBAC oferece desconto de 50% na inscrição do Concurso do TEAC, ficando no valor de R\$105,00. Aqueles que optarem, poderão participar somente do Concurso pagando o valor integral de R\$210,00.

O prazo de recebimento das fichas de inscrição para o Concurso será até o dia 25/05/2011 (chegada na secretaria).

Para mais informações, acesse: www.sbac.org.br

Atividade antimicrobiana de Tigeciclina frente a Cocos Gram-Positivos de importância clínica de Santa Maria-RS*

Antimicrobial activity of tigecycline against clinical isolates of Gram-Positive Coccus from Santa Maria - RS*

Lucas Wesz¹, Tiago de Castro Rodrigues¹, Marta Duarte², Rafael Pulcinelli³, Roberto Christ Vianna

RESUMO - As infecções causadas por microrganismos Gram-positivos têm sido e são um problema importante tanto na comunidade como no âmbito hospitalar. Na era atual de redução no desenvolvimento de fármacos antimicrobianos, a Tigeciclina é a primeira das Glicilciclina aprovadas para uso clínico pela FDA (*US Food and Drug Administration*) que pode apresentar uma importante atividade contra estes microrganismos. Neste estudo, foram analisadas 131 amostras de cocos Gram-positivos provenientes de isolados clínicos de pacientes internados em um hospital privado de Santa Maria-RS. Para a determinação da atividade antimicrobiana de Tigeciclina utilizou-se o método de disco-difusão, onde foram dispostos discos de Tigeciclina nas placas contendo o meio de cultura Ágar Mueller Hinton. Os sítios anatômicos mais freqüentes de isolados clínicos foram: urina com 44 amostras (33,6%), seguido de secreções com 22 amostras (16,8%), hemoculturas com 22 amostras (16,8%) e secreção traqueal com 12 amostras (9,2%). Os microrganismos mais freqüentemente isolados foram *Staphylococcus aureus* com 87 amostras (66,4%), seguido de *Streptococcus* sp. com 19 amostras (14,5%), *Staphylococcus aureus* coagulase negativo com 8 amostras (6,1%), e *Staphylococcus epidermidis* com 7 amostras (5,4%). Quando verificada a atividade antimicrobiana de Tigeciclina, verificou-se que todas as amostras (100%) apresentaram susceptibilidade *in vitro*.

Palavras-chave: Tigeciclina, Gram-positivos, atividade antimicrobiana.

SUMMARY - The infections caused by Gram-positive microorganisms have been and are an important problem in both the community as well as the hospital extent. In the current era of reduction in the development of antimicrobial medicines, Tigecycline is the first of the Glycylcyclines approved to be clinically used by the FDA (*US Food and Drug Administration*) and it is capable of showing an important activity against those microorganisms. In this study, a total of 131 samples of Gram-positive cocci excrement were tested and they were originating from clinical isolated cases of interned patients at a private hospital in Santa Maria - RS. To determine the antimicrobial activity of Tigecycline, the disk diffusion method was used, where disks of Tigecycline were available in plates which contained the Mueller-Hinton Agar medium. The most frequent anatomical sites of clinical isolated cases were: a total of 44 samples of urine (33, 6%), followed by 22 samples of secretions (16, 8%), 22 samples of hemoculture (16, 8%) and 12 samples of tracheal secretion (9, 2%). The most frequently isolated microorganisms were a total of 87 samples of *Staphylococcus aureus* (66, 4%), followed by 19 samples of *Streptococcus* sp. (14, 5%), 8 samples of negative *Staphylococcus aureus* coagulose (6, 1%), and 7 samples of *Staphylococcus epidermidis* (5, 4%). When the antimicrobial activity of Tigecycline was verified, all the samples (100%) showed *in vitro* susceptibility.

Keywords: Tigecycline; Gram-positive; antimicrobial activity.

INTRODUÇÃO

A Tigeciclina, um fármaco da classe das Glicilciclina, foi sintetizada com o intuito de combater microrganismos multirresistentes, sendo a primeira a avançar em relação ao desenvolvimento clínico. Possui particularidades comuns à Minociclina (Tetraciclina), mas com muitas alterações moleculares que produziram uma grande ampliação do espectro, diminuíram os efeitos colaterais e melhoraram as características farmacocinéticas (MARANGONI, 2005).

A Tigeciclina (Figura 1) tem como mecanismo de ação, impedir a tradução protéica das bactérias ligando-se à subunidade 30S. Com isso, impede a entrada de moléculas aminoacil-tRNA no sítio A do ribossomo,

evitando a incorporação de resíduos de aminoácidos nas cadeias de peptídeos alongadas. A Tigeciclina possui uma porção glicilamido ligada à posição 9 da Minociclina. Essa consegue agir nos dois principais mecanismos de resistência às Tetraciclina, a proteção e o efluxo ribossomal (Tygacil® - Laboratórios Wyeth-Whitehall).

A atividade da Tigeciclina não é alterada pelos mecanismos de resistência das beta-lactamases (incluindo as ESBLs), modificações dos sítios alvo, bombas de efluxo de macrolídeos ou alterações alvo da enzima (ex.: girase/topoisomerase). Logo, a Tigeciclina mostrou atividade *in vitro* e *in vivo* contra um amplo espectro de patógenos bacterianos resistentes a diversos fármacos freqüentemente encontradas na comunidade e nos hospitais (GALES *et al.*, 2005).

Recebido em 13/03/2009

Aprovado em 29/11/2010

¹ Laboratório de Microbiologia Clínica - Centro Universitário Franciscano-UNIFRA
Rua dos Andradas, 1614 Prédio 4 Sala 115-B Fone: (55)3220-1200 Cep:97010-032 Santa Maria - RS

² Laboratório Labimed - Santa Maria-RS

³ Laboratório Unilab - Porto Alegre-RS

* Trabalho desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Clínica- Centro Universitário Franciscano-UNIFRA
Rua dos Andradas, 1614 Prédio 4 Sala 115-B Fone: (55)3220-1200 Cep:97010-032 Santa Maria - RS

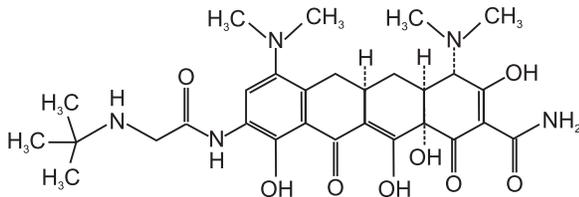


Figura 1- Fórmula estrutural da Tigeciclina.

O objetivo deste estudo foi determinar a atividade antimicrobiana de Tigeciclina em amostras de cocos Gram-positivos de importância clínica isolados em pacientes hospitalares de Santa Maria-RS.

MATERIAIS E MÉTODOS

Após coletadas as amostras de cocos Gram-positivos provenientes de isolados clínicos de pacientes internados em um hospital privado de Santa Maria-RS, as mesmas foram identificadas através da utilização de métodos convencionais ou automatizados pelo laboratório do hospital, e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Clínica do Curso de Farmácia do Centro Universitário Franciscano – UNIFRA, com a utilização de meios de cultura de transporte Stuart ou Amies (DME, LTDA). No laboratório, os swabs foram retirados do meio de transporte e inoculados em meio de cultura Ágar Base Sangue com 5% de sangue desfibrinado de carneiro (Merck) e, posteriormente as placas foram incubadas a 36,5-37°C por 24 horas. Decorrido o tempo necessário de incubação, foi realizada a técnica de disco-difusão utilizando discos de papel impregnados do antimicrobiano (Tigeciclina 15 µg-OXOID) com auxílio de uma pinça flambada e resfriada.

CONFLITO DE INTERESSES

O Laboratório Wyeth patrocina este projeto, através da doação dos discos de Tigeciclina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os meses de março a outubro de 2008 foram analisadas 131 amostras de cocos Gram-positivos provenientes de isolados clínicos de pacientes internados em um hospital privado de Santa Maria-RS. Estas amostras foram coletadas de diversos sítios infecciosos como: escarro, hemoculturas, lavados brônquicos, pontas de cateteres, secreções de ferimentos de diversos locais do corpo, secreções nasais, secreções traqueais e urina (tabela 1).

Dentre as amostras, foram identificadas 55 de *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina, 32 de *S. aureus* sensível a Meticilina, 6 de *Enterococcus* sp., 4 de *Streptococcus pyogenes*, 7 de *Staphylococcus epidermidis*, 8 de *Staphylococcus* coagulase negativo e 19 de *Streptococcus* sp. Os dados podem ser visualizados na tabela 2.

O uso do cateter vascular central (CVC) representou um grande avanço no diagnóstico e na terapêutica em medicina. Porém, com sua difusão de uso, aumentou, proporcionalmente, a incidência de infecções nosocomiais,

Tabela 1 - Espécimes clínicos de pacientes hospitalizados em Santa Maria-RS.

Sítios Infecciosos	Frequência	%
Urina	44	33,6
Secreções *	22	16,8
Hemoculturas	22	16,8
Secreção Traqueal	12	9,2
Escarro	11	8,4
Ponta de cateter	10	7,6
Lavado brônquico	7	5,3
Outros **	3	2,3
Total	131	100

* Incluem secreções de ferida, gastrotômica, nasal, parede abdominal, perna, uretral, pênis, prostática, ocular, orofaringe, aspirado e cúpitas amígdalas.

** Incluem material de vagina, esperma e gengiva.

Tabela 2 - Cocos Gram-positivos isolados de pacientes internados em um hospital privado de Santa Maria-RS.

Microrganismos	Frequência	%
<i>S. aureus</i> resistente à Meticilina	55	42,0
<i>S. aureus</i> susceptível à Meticilina	32	24,4
<i>Streptococcus</i> sp.	19	14,5
<i>S. aureus</i> coagulase negativo	8	6,1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7	5,4
<i>Enterococcus</i> sp.	6	4,5
<i>Streptococcus pyogenes</i>	4	3,1
Total	131	100

ocorrendo modificações na frequência de microrganismos patogênicos. A microbiota contaminante tornou-se bastante variada e os microrganismos que antes eram raramente isolados, hoje são mais comuns nas infecções, como é o caso do *Staphylococcus* coagulase negativo (SCN) (MELO *et al.*, 2007). Neste estudo foram analisadas 10 (7,6%) pontas de cateteres, onde o *S. coagulase* negativo foi um dos microrganismos encontrados.

Na última década os microrganismos Gram-Positivos, em especial o *Staphylococcus aureus*, emergiram como importantes agentes causadores de infecção da corrente sanguínea. Estas infecções acometem pacientes em todas as faixas etárias, com maior frequência nos extremos de idade e apresentam pior prognóstico em pacientes com idade acima de 50 anos.

No presente estudo foram encontrados 63,2% de *S.aureus* resistente a Meticilina. Os dados encontrados estão de acordo com a realidade da incidência deste microrganismo em relação a achados clínicos de outros hospitais, como no estudo de MOREIRA *et al.* (1998), onde foram encontrados 70% de MRSA nas infecções hospitalares.

No Brasil, as infecções hospitalares causadas por *S. aureus* resistentes a Metecilina, também é elevado, correspondendo de 40% a 80%, principalmente nas UTIs. Pesquisas recentes demonstraram altos índices de mortalidade em pacientes que desenvolveram bacteremia por MRSA, 49% a 55%, do que por *S. aureus* sensível à Metecilina (MSSA), 20% a 32%. (ROSSI *et al.*, 2005).

Atualmente, os β -lactâmicos são uma das classes de antimicrobianos mais utilizados no âmbito hospitalar. Para isso, a detecção de MRSA tornou-se relevante, pois segundo a *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), para *Staphylococcus aureus* resistente à Metecilina, todas as penicilinas, cefens e outros β -lactâmicos podem parecer ativos *in vitro* mas não são clinicamente eficazes (CLSI, 2005). E, neste contexto, a Tigeciclina apresenta-se como uma importante opção terapêutica para o tratamento de MRSA, pois através do presente estudo observou-se 100% de atividade antimicrobiana *in vitro* contra cepas de *S. aureus* resistente a Metecilina de isolados clínicos provenientes de um hospital privado de Santa Maria-RS.

Observou-se também uma importante atividade antimicrobiana de Tigeciclina frente a MRSA em um estudo de BABINCHAK *et al.* (2005), onde dois tratamentos foram efetivos na erradicação de isolados pré-tratamento de *S. aureus* susceptível a Metecilina (92,9% com a Tigeciclina e 91,7% com Imipenem-Cilastatina). Porém, na erradicação bacteriana em pacientes com *S. aureus* resistentes a Metecilina, a atividade antimicrobiana foi de 75% com a Tigeciclina e apenas 33% com Imipenem-Cilastatina.

Nosso estudo mostrou que das 131 amostras, todas (100%) apresentaram susceptibilidade *in vitro* a Tigeciclina. Estes dados estão de acordo com o estudo de MARTÍNEZ *et al.* (2007), onde a Tigeciclina demonstrou excelente atividade *in vitro* contra microrganismos Gram-positivos os quais se reportaram como susceptíveis a ela em 100% dos isolamentos obtidos.

Observou-se que 87 (66,4%) amostras eram de *Staphylococcus aureus*, um microrganismo de grande relevância pelo fato de ser encontrado no ambiente de circulação do ser humano, sendo o próprio homem seu principal reservatório e, além de estar presente em diversas partes do organismo, como: fossas nasais, garganta, intestinos e pele. Desses sítios anatômicos, as narinas possuem o maior índice de colonização, cuja prevalência é de cerca de 40% na população adulta, podendo ser ainda maior dentro de hospitais (SANTOS *et al.*, 2007).

Por outro lado, o entendimento do funcionamento da patogenicidade desse perigoso agente infeccioso pode orientar os profissionais de clínica na racionalização de sua antibioticoterapia, minimizando assim, as chances de seleção de cepas resistentes (e multirresistentes) aos antimicrobianos.

As infecções causadas por microrganismos Gram-positivos têm sido e são um problema importante tanto na comunidade como no âmbito hospitalar. E, para isso, a Tigeciclina pode ser vista como uma nova ferramenta terapêutica de amplo espectro em uma era onde surgem poucas novas alternativas antimicrobianas e, em especial pelo fato de ser ativa contra microrganismos com grande variedade de mecanismos de resistência.

CONCLUSÃO

Através deste estudo foi possível observar que a Tigeciclina mostrou uma ótima atividade antimicrobiana *in vitro* frente aos isolados clínicos provenientes de pacientes de um hospital privado de Santa Maria-RS, visto que, todas as amostras testadas foram sensíveis a este antimicrobiano. Portanto, a Tigeciclina pode ser considerada como uma nova opção no tratamento de infecções causadas por cocos Gram-Positivos.

No sentido de combater as infecções bacterianas e em virtude da crescente resistência apresentada pelos microrganismos, ao longo dos anos, vários fármacos cada vez mais potentes foram sendo desenvolvidos. Entretanto, pelas dificuldades enfrentadas na luta contra as infecções, o ideal seria o desenvolvimento de novos medicamentos para combater agentes de doenças que vão surgindo, com os devidos cuidados e medidas de controle, além da utilização racional de forma que diminua o fenômeno da resistência.

Ressalta-se a partir do estudo que a frequência relativa de ocorrência dos microrganismos varia entre as instituições, não só por características próprias do hospital e da população atendida, mas também em decorrência dos métodos empregados para o diagnóstico e as condições adequadas dos laboratórios em processar os exames. Assim, é importante que cada instituição conheça os agentes mais frequentes no seu ambiente e que esteja preparada para combatê-los e para evitar a sua recorrência.

REFERÊNCIAS

- BABINCHAK, Timothy; ELLIS-GROSSE, Evelyn; DARTOIS, Nathalie; ROSE, Gilbert M.; LOH, Evan. Eficácia e Segurança da Tigeciclina no tratamento de infecções intra-abdominais complicadas: Análise de dados agrupados de estudos clínicos. *Clinical Infectious Diseases*. v.41, p.354-367, 2005.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo. M100-S15, v.25, n.1.
- GALES, A. C.; JONES, R. N.; ANDRADE, S. S.; PEREIRA, A. S.; SADER, H. S. *In vitro* activity of tigecycline, a new glycolcyclycline, tested against 1,326 clinical bacterial strains isolated from Latin America. *Braz J Infect Dis* n.9, v.5, p.348-356, 2005.
- MARANGONI, Denise Vantil. Onde estamos? In: Anais de 45 Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2005.
- MARTÍNEZ, Ernesto; ALQUICHIRE, Carlos; PÉREZ, Carlos; PRADA, Guillermo; ROZO, Varinia; LAROTTA, Jorge. Comparación de la actividad *in vitro* de La tigeciclina contra microrganismos causantes de infección en pacientes hospitalizados en Colombia: estudio de evaluación y vigilancia de tigeciclina. *TEST. Asociación Colombiana de Infectología*. v. 11 - 4, 2007.
- MELO, Mariniuza A. C.; MONTEIRO, Rosana C. S.; VIEIRA, Antônia B. R.; BRAZÃO, Maria A. B.; VIEIRA, José M. S. Bactérias Isoladas de Ponta de Cateter Venoso Central e Suscetibilidade Antimicrobiana em um Hospital Público de Belém-PA. *RBAC*. v. 39(2), p.115-118, 2007.
- MOREIRA, M.; MEDEIROS, E. A. S.; PIGNATARI, A. C. C.; WEY, S. B.; CARDO, D. M. Efeito da infecção hospitalar da corrente sanguínea por *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina sobre a letalidade e o tempo de hospitalização. *Rev Ass Med Brasil*. v.44(4), p.263-268, 1998.
- ROSSI, F.; ANDREAZZE, D. B. Resistência Bacteriana interpretando o antibiograma. 1.ed. São Paulo (SP): Atheneu, 2005.
- SANTOS, André Luis; SANTOS, Dilvani Oliveira; FREITAS, Cícero Carlos; FERREIRA, Bruno Leal Alves; AFONSO, Ilídio F.; RODRIGUES, Carlos Rangel; CASTRO, Helena C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *Bras Patol Med Lab*. v. 43, n. 6, p. 413-423, dez 2007.
- Tygacil® - Laboratórios Wyeth-Whitehall. Monografia do produto.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Roberto Christ Vianna
Centro Universitário Franciscano - UNIFRA
Laboratório de Microbiologia Clínica
Rua dos Andradas, 1614 - Prédio 4Sala 115-B
Santa Maria - RS CEP: 97010.032

Associação entre Fibromialgia e Hipotireoidismo

Association between Fibromyalgia and Hypothyroidism

Lisiane Silveira Zavalhia¹ & Matias Nunes Frizzo²

RESUMO - Fibromialgia é uma síndrome de origem desconhecida que acomete frequentemente mulheres. Existem evidências de que a maioria dos casos de fibromialgia associam-se com dificuldades na produção de hormônios tireoideanos, ou no seu aproveitamento. Avaliou-se a associação entre fibromialgia e hipotireoidismo em 28 pacientes do sexo feminino, previamente diagnosticadas como fibromiálgicas, atendidas no consultório de reumatologia do município de Ijuí- RS, no período entre agosto de 2008 e novembro de 2008. Foram classificadas como portadoras de hipotireoidismo pacientes que apresentavam níveis de TSH elevados e T4 diminuídos ou normais; a função tireoideana foi considerada normal quando as concentrações séricas estavam dentro dos valores de referência: TSH: 0,3 – 5,0 mUI/mL; T4 livre: 0,7 – 1,8 ng/dL. A análise dos 28 prontuários revelou que 10,71% das pacientes eram, além de fibromiálgicas, portadoras de hipotireoidismo e 89,29% não apresentaram alteração nos hormônios tireoideanos. Conclui-se que houve uma baixa frequência de hipotireoidismo entre estas pacientes. Dentre os motivos para a baixa frequência do hipotireoidismo, um dos fatores mais relevantes foi o número baixo de prontuários analisados. Além disso, é importante acrescentar-se que avaliar os níveis de hormônios tireoideanos em pacientes portadoras de fibromialgia é de grande relevância clínica e deve ser adotado como um exame de screening.

Palavras-chave: Fibromialgia. Tireóide. Hipotireoidismo.

SUMMARY - *Fibromyalgia is a syndrome of unknown origin that often affects women. There is evidence that most cases of fibromyalgia are associated with difficulties in the production of thyroid hormones, or their use. We evaluated the association between fibromyalgia and hypothyroidism in 28 female patients previously diagnosed fibromyalgia attending the rheumatology clinic in the city of Ijuí-RS in the period between August 2008 and November 2008. Were classified as suffering from hypothyroid patients with elevated levels of TSH and T4 decreased or normal, thyroid function was considered normal when serum concentrations were within reference values: TSH: 0.3 - 5.0 mIU / mL, T4 free: 0.7 - 1.8 ng / dL. The analysis of 28 medical records revealed that 10.71% of the patients were, in addition to fibromyalgia, suffering from hypothyroidism and 89.29% showed no change in thyroid hormones. It is concluded that there was a low incidence of hypothyroidism among these patients. Among the reasons for the low frequency of hypothyroidism, one of the most important factors was the low number of records analyzed. Furthermore, it is important to add that measure levels of thyroid hormones in patients with fibromyalgia is of great clinical relevance and should be adopted as a screening examination.*

Keywords: Fibromyalgia. Thyroid. Hypothyroidism.

INTRODUÇÃO

A síndrome da fibromialgia é de etiologia reumática, não articular de origem desconhecida, sendo mais prevalente em mulheres do que em homens, que se caracteriza por dor musculoesquelética difusa e pela presença de múltiplos pontos dolorosos⁶.

A fibromialgia não possui distinção dentre as classes sociais, ou seja, não é uma doença dependente de fatores sócio-econômicos⁶. Esta entidade patológica é considerada uma síndrome porque se caracteriza por um conjunto de sinais e sintomas, que, além de causarem dor, podem incluir formigamento, fadiga, irritabilidade, enxaqueca, cólon irritável, pernas inquietas, distúrbios do sono, bem como diversos outros sintomas⁶.

Segundo GOLDENBERG⁶, o pico de incidência é entre 30 e 60 anos, podendo aparecer em crianças e adolescentes como também em idosos. Esta síndrome afeta crianças, no entanto, de forma menos freqüente do que na população adulta^{5,2,3}.

A etiologia da fibromialgia, ainda, não é compreendida completamente, mas sabe-se que há

inúmeros distúrbios endócrinos, do sistema nervoso central e de estresse que acarretam as variadas condições de dor em seus portadores¹⁴.

Conforme WOLFE²¹, o Colégio Americano de Reumatologia (*American College of Rheumatology – ACR*) preconiza os seguintes critérios de classificação para a fibromialgia, os quais foram propostos em 1990, e que contemplam 18 pontos dolorosos: nuca, lateral do pescoço, músculo trapézio, face lateral do ombro, segunda costela, cotovelo, nádegas, quadril e joelho.

Ainda, na determinação para critérios de classificação da fibromialgia, em 1990, foi denominada Fibromialgia Primária, quando não havia nenhuma doença concomitante, e Fibromialgia Secundária quando fosse decorrentes ou concomitantes a outras patologias¹.

Pesquisas sugerem que há uma predisposição genética para a síndrome, porém o quadro só se manifesta quando surgem desencadeantes; estes, agindo sobre os indivíduos predispostos seriam o suficiente para causar os desequilíbrios de modulação da dor e dar início à crise⁶. Um estudo sobre genética e fibromialgia sugere que o distúrbio pode ser transmitido aos seus descendentes por um mecanismo autossômico dominante⁸.

Recebido em 30/06/2009

Aprovado em 06/01/2011

¹Bacharel em Biomedicina, Universidade de Cruz Alta.

² Departamento de Ciências da Saúde, Universidade de Cruz Alta

A amplificação dolorosa que caracteriza a fibromialgia é resultado de um desequilíbrio ocasionado entre os percursos da dor, das vias ascendente (da periferia para o SNC) e descendente (do cérebro para periferia)⁶.

RIBERTO¹⁷ afirma que os níveis significativamente elevados de substância P (que está envolvida na transmissão da dor) e níveis reduzidos de serotonina e seus precursores no Líquor dos fibromiálgicos são sugestivos de desequilíbrios entre a percepção dolorosa e os mecanismos moduladores da dor das vias aferentes, complementando que a substância P medeia as vias aferentes, enquanto a serotonina medeia a inibição da dor.

Diversos estudos têm demonstrado uma quantidade três vezes maior de substância P e uma diminuição significativa de serotonina na medula dos portadores de fibromialgia e, ainda, uma redução no transporte do triptofano ao cérebro destes pacientes. Portanto, há um excesso de substância P que envia informações dolorosas ao cérebro e uma redução de serotonina, que suprimem a dor⁶.

Em alguns estudos foi apresentada a hipótese de que níveis reduzidos de serotonina indentificados no soro e líquido de fibromiálgicos venham a ser os principais causadores das variadas manifestações clínicas que afetam estes portadores. E, ainda; sugere a existência de alguns mecanismos a serem considerados como uma deficiência de produção ou de aproveitamento dos hormônios tireoideanos⁴.

O diagnóstico da fibromialgia é exclusivamente clínico. Segundo a literatura, não há alterações laboratoriais específicas que detectem a síndrome¹⁹.

Há evidências de que a maioria dos casos de fibromialgia associam-se com dificuldade na produção de hormônios tireoideanos ou no seu aproveitamento. A literatura relata que as duas disfunções ao mesmo tempo aumentam a chance do aparecimento de hipotireoidismo em pacientes fibromiálgicas¹⁵.

A fibromialgia é reconhecida como um conjunto de sintomas relacionados a fatores desencadeantes, sendo um deles o estresse que, por si só, pode acarretar alterações do sistema neuroendócrino que acaba envolvendo o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e suas interações recíprocas com outras funções endócrinas como a tireoideana. E ainda faz referências a outras literaturas sustentando a hipótese de que o estresse favorece o aumento do hormônio liberador de corticotropina que por sua vez acaba estimulando a secreção de somatostatina, a qual inibe a produção de hormônios sexuais e tireoideanos⁴.

Muitos sintomas têm sido descritos na literatura sobre a fibromialgia, porém os mais comuns são a fadiga e o sono não reparador. Porém, algumas destas manifestações clínicas podem estar relacionadas com outras doenças, entre elas, o hipotireoidismo, o qual tem sido alvo de estudos por suas possíveis similaridades com a fibromialgia, como, por exemplo, a sintomatologia^{4,13}.

A síndrome da Fibromialgia pode apresentar-se isoladamente ou associada a outras doenças clínicas, sendo uma delas o hipotireoidismo^{5,11}.

Segundo a literatura, o hipotireoidismo é causado

por qualquer alteração estrutural ou funcional que interfira na produção de níveis adequados de hormônios tireoideanos. Ele pode resultar de um defeito em qualquer parte do eixo hipotalâmico-hipofisário-tireoideano⁷.

As causas primárias são aquelas relacionadas à própria tireoide ou a ausência dela, ou quando ela é hipofuncionante, quando ocorre defeitos genéticos na formação do hormônio tireoideano e inflamações crônicas. As causas secundárias relacionam-se com deficiências hipofisárias do hormônio tiroestimulante (TSH)¹⁰.

Os exames laboratoriais evidenciam, nas causas primárias, níveis de hormônios tiroestimulante (TSH) elevados e níveis de T3 e T4 diminuídos. Nas causas secundárias os níveis de hormônio tiroestimulante (TSH) são baixos e T3 e T4 diminuídos¹⁰.

Segundo REZENDE *et al.*¹⁷, as alterações tireoideanas, especialmente o hipotireoidismo, podem apresentar como características clínicas sinais e sintomas inespecíficos como cansaço, dificuldade em concentrar-se e déficit de memória, parestesias, dentre outros, que se assemelham aos sintomas presentes na fibromialgia.

Existem relatos, sobre a presença de hipotireoidismo em mulheres portadoras de fibromialgia. Sintomas presentes na síndrome da fibromialgia, como dor muscular, diminuição da capacidade física e fadiga, são semelhantes aos relacionados com algumas disfunções endócrinas, sendo uma delas o hipotireoidismo¹⁵.

O objetivo deste estudo foi investigar uma possível associação entre fibromialgia com hipotireoidismo, analisar sua frequência em pacientes fibromiálgicas, bem como investigar a possível associação entre as duas patologias.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi realizado nos meses de agosto e novembro de 2008. Foram analisados os prontuários cedidos pelo Dr. Hercules Aparecido de Moraes, o qual possui um consultório médico de reumatologia no município de Ijuí - RS.

Foram avaliados os prontuários de 28 pacientes do sexo feminino, na faixa etária entre 15 e 70 anos, acompanhadas no consultório de Reumatologia do município de Ijuí. Todas as pacientes preencheram os critérios de classificação para fibromialgia do ACR. Para realização deste estudo foram usados alguns critérios de exclusão, como pacientes do sexo masculino, visando que a fibromialgia acomete freqüentemente pacientes do sexo feminino. Também, foram excluídas as pacientes que possuíam fibromialgia secundária e que fazem o uso de algumas medicações, tendo o conhecimento de que alguns medicamentos podem interferir nas dosagens normais de hormônios tireoideanos.

Foram selecionadas pacientes portadoras de fibromialgia primária, ou seja, que não possuíam nenhuma outra patologia concomitante.

Os dados foram retirados dos prontuários de pacientes previamente diagnosticadas como portadoras de fibromialgia primária; estes eram referentes às dosagens de T4 livre e TSH. A partir desta análise, foi confeccionado um banco de dados das

pacientes com fibromialgia no qual foram analisadas as dosagens hormonais investigando a existência de uma possível associação entre fibromialgia e hipotireoidismo.

Foram consideradas pacientes fibromiálgicas portadoras de hipotireoidismo, aquelas que apresentaram valores de TSH elevados, e de T4 reduzidos ou normais.

A função tireoideana foi considerada normal quando as concentrações séricas estavam dentro dos valores de referência: TSH: 0,3–5,0 mUI/mL; T4 livre: 0,7–1,8 ng/dL; as concentrações séricas consideradas normais utilizadas, foram baseadas na metodologia dos exames realizados pelas pacientes, utilizando os valores de referências mínimos e máximos encontrados nos seus respectivos prontuários.

É importante ressaltar os aspectos éticos envolvidos neste estudo, no qual foram mantidos em sigilo total da identidade de cada paciente, livrando-as de qualquer tipo de constrangimento.

RESULTADOS

Foram avaliados 28 prontuários de pacientes fibromiálgicas. A idade média da população estudada foi de 47,1 anos.

Os valores de TSH e de T4 livre foram inseridos em um quadro de identificação de cada participante do estudo para a comparação dos resultados, já que mulheres portadoras de hipotireoidismo apresentam níveis de T4 reduzidos ou normais e valores de TSH significativamente elevados.

Para o diagnóstico de hipotireoidismo, foram considerados níveis de TSH elevados e T4 livre diminuídos ou normais. A função tireoideana foi considerada normal quando as concentrações séricas estavam dentro dos valores de referência: TSH: 0,3–5,0 mUI/mL; T4 livre: 0,7–1,8 ng/dL.

Três pacientes do estudo apresentavam valores elevados de TSH e valores de T4 normais sendo, portanto; consideradas portadoras de hipotireoidismo.

Os sintomas descritos pelas pacientes foram insônia, cervicocalgia, dor matinal, dor crônica, dor noturna, dificuldade para caminhar, mialgia, depressão, dor na cintura e articulações. Dentre os principais sintomas relatados pelas pacientes fibromiálgicas os mais frequentes foram a dor noturna, dor crônica, e a dor na cintura.

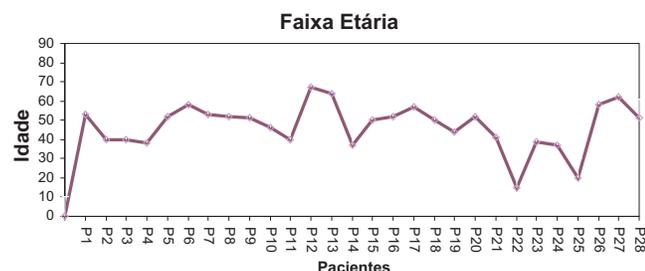


Gráfico 1: Faixa etária das pacientes.
Fonte: Dados coletados das fichas médicas das pacientes portadoras de fibromialgia, 2008.

Os resultados a cerca da frequência de hipotireoidismo na população estudada, revelou a taxa de mulheres fibromiálgicas e portadoras de hipotireoidismo que foi de 10,71% (3 pacientes). Dessa forma, verificou-se uma baixa frequência de hipotireoidismo na população estudada.

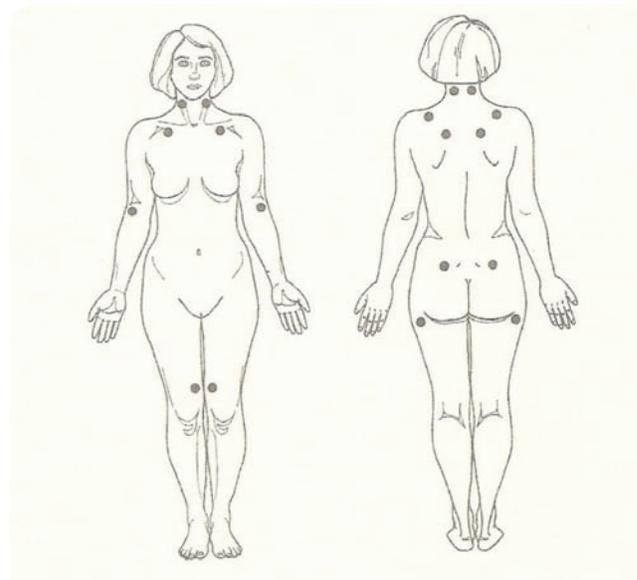


Figura 1: Os 18 pontos sensíveis (tender points).
Fonte: HAMMERLY, 2006.

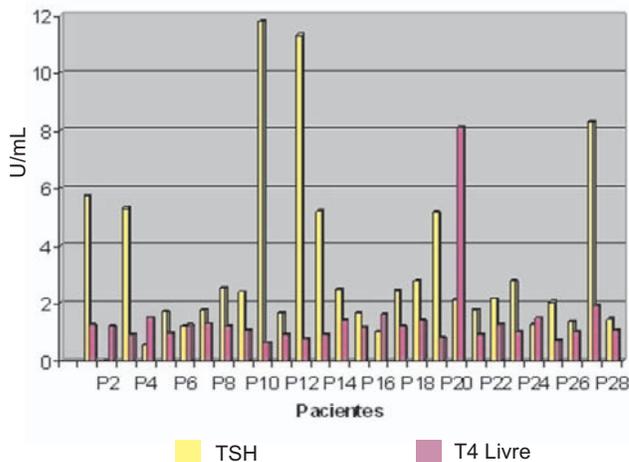


Gráfico 2: Níveis de TSH e T4 Livre

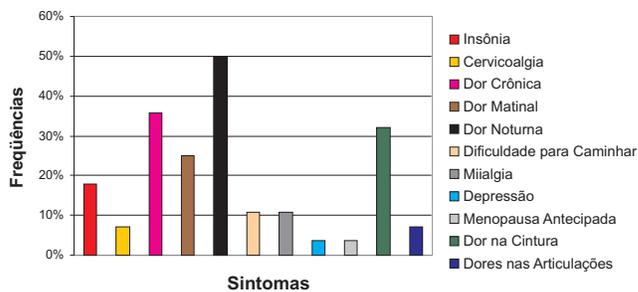
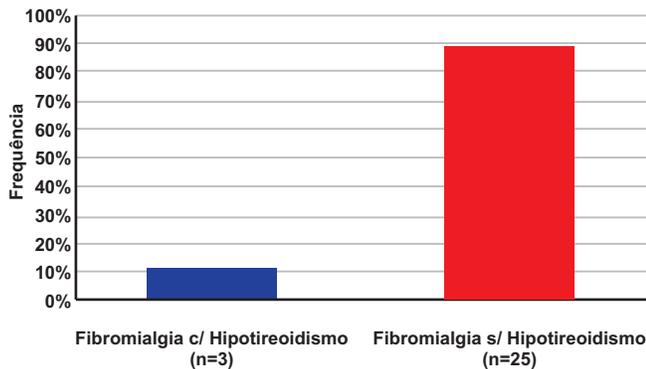


Gráfico 3: Principais sintomas relatados pelas pacientes.
Fonte: Dados coletados das fichas médicas das pacientes portadoras de fibromialgia, 2008.



Frequência de pacientes Fibromiálgicas com presença ou ausência de Hipotireoidismo (n=28)

Gráfico 4 – Ilustra a porcentagem de pacientes fibromiálgicas que apresentaram hipotireoidismo.

Fonte: Dados coletados das fichas médicas das pacientes portadoras de fibromialgia, 2008.

É importante ressaltar que a maioria das pacientes com hipotireoidismo encontrava-se na faixa etária de 60 anos; estudos demonstram que é comum casos de hipotireoidismo em idosos¹².

DISCUSSÃO

A fibromialgia é uma síndrome predominante no gênero feminino, caracterizada por um conjunto de sinais e sintomas, porém sua etiopatogênese não está bem esclarecida.

A proposta deste estudo foi verificar possíveis associações entre a fibromialgia e o hipotireoidismo, já que ambos apresentem características clínicas, sinais e sintomas semelhantes; possam, também apresentar alguns fatores desencadeantes da síndrome de fibromialgia que possam interferir nos níveis de hormônios tireoideanos e também, tendo o conhecimento de que ambas as patologias acometem freqüentemente mulheres.

Com base nos resultados obtidos, observou-se a uma baixa freqüência de hipotireoidismo na população estudada (10,71%). Analisando os resultados, foi possível comprovar que, ambas as patologias acometem pacientes do sexo feminino, e em média após os 50 anos.

Segundo a literatura, são descritos inúmeros sintomas clínicos, tais como rigidez matinal, fadiga, distúrbios do sono¹¹, dentre outros, um dos sintomas predominantes em pacientes fibromiálgicos, sem dúvidas é a dor crônica que afeta a qualidade de vida de seus portadores, este sintoma foi um dos mais descritos nesta amostra.

Durante alguns anos, a literatura descreveu que pacientes com diversos tipos de hipotireoidismo apresentam sintomas musculoesqueléticos de origem desconhecida, sendo um deles a fibromialgia^{4,20}. A literatura estima que 30 a 80% de pacientes portadores de hipotireoidismo apresentem sintomas musculoesqueléticos⁴.

Em estudos realizados por JOHN *et al.*⁹, de 92

pacientes, 52 apresentaram testes laboratoriais compatíveis para hipotireoidismo, o que demonstra que neste estudo obteve-se uma alta freqüência de hipotireoidismo em pacientes fibromiálgicos.

Pode-se inferir, que é comum encontrarmos mulheres com fibromialgia e hipotireoidismo. Neste estudo, observou-se pacientes com hipotireoidismo na população de mulheres fibromiálgicas, porém a freqüência dessa desordem hormonal foi reduzida. Dentre os motivos pelos quais não encontramos uma alta freqüência de mulheres com hipotireoidismo nesta população amostral, pode-se citar o reduzido número de prontuários analisados na clínica reumatológica. Outro aspecto a ressaltar é que em estudos análogos, também se identificou baixas freqüências de hipotireoidismo na população fibromiálgica.

FREIRE *et al.*⁴, observaram em seu estudo, que dentre 166 pacientes estudados, com diagnóstico prévio de fibromialgia, 35 apresentaram associações com hipotireoidismo. Noutro estudo proposto por SHIROKY *et al.*¹⁸, pode-se observar 4 casos de hipotireoidismo em 34 pacientes portadores de fibromialgia. Nesses estudos, encontrou-se resultados semelhantes aos observados nesta população amostral.

Estudos recentes demonstram que há maior proporção de hipotireoidismo em portadores de fibromialgia do que na população geral¹⁵. Esses resultados vêm de encontro ao que também foi observado nesta população amostral.

Além disso, REZENDE¹⁶ menciona que analisando-se a alta prevalência da fibromialgia na população geral e sabendo-se que o hipotireoidismo é também uma condição freqüente que pode ser confundida com a fibromialgia, torna-se importante avaliar o papel da dosagem do hormônio estimulante da tireóide (TSH), bem como as dosagens séricas de T4 em pacientes com diagnóstico de fibromialgia, como um exame de *screening*.

A associação entre fibromialgia e tireoideopatia não está bem esclarecida até então; porém, é comum a investigação de doenças da tireóide em pacientes portadores de fibromialgia, devido à similaridade dos sintomas e por afetarem geralmente pacientes do mesmo sexo.

É de tal conhecimento que a fibromialgia é uma condição freqüente na população, e que afeta a qualidade de vida de seus portadores; portanto, torna-se importante avaliar o paciente fibromiálgico a fim de proporcionar uma melhora na sua qualidade de vida, visando, inclusive um diagnóstico diferencial, tendo em vista que a fibromialgia assemelha-se a algumas patologias, tornando-se extremamente importante um diagnóstico correto.

Conclui-se que fibromialgia é uma condição frequente na população em geral, bem como o hipotireoidismo. Após a análise dos prontuários, concluiu-se, que existe uma freqüência de pacientes portadoras de fibromialgia que são acometidas pelo hipotireoidismo, indicando que é de suma importância um exame de *screening*, em busca de um diagnóstico diferencial, visando a melhora da qualidade de vida destes pacientes, tendo o conhecimento de que ambas as patologias tenham sintomas clínicos semelhantes, que acometem freqüentemente o mesmo sexo, e em alguns casos são concomitantes.

REFERÊNCIAS

1. ASSUMPCÃO A. Prevalência de fibromialgia e avaliação de sintomas associados, capacidade funcional e qualidade de vida na população do município de Embu, São Paulo. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
2. BUSKILA, D. Fibromyalgia: a biopsychosocial syndrome. The Israel Medical Association Journal, Ramat Gan, v. 5, n. 12, p. 887-888, 2003.
3. CAVALCANTE AB; SAUER JF; Chalot SD; ASSUMPCÃO A; LAGE LV *et al.* A prevalência de fibromialgia: Uma Revisão de Literatura. Rev Bras Reumatol, vol.46, no1, p.40-48, 2006.
4. FREIRE M; TEODORO RB; OLIVEIRA LB; CUNHA SFC; FERREIRA BP; BORGES MF *et al.* Concomitância de Fibromialgia em Pacientes Portadores de Hipotireoidismo e de Alterações Tireoideanas em Pacientes com Fibromialgia. Rev. Bras Reumatol, vol.46, no1, p.11-15, 2006.
5. GOLDENBERG DL: Fibromyalgia syndrome: an emerging but controversial condition. Journal of the American Medical Association, vol. 257, p. 2782-7.1987.
6. GOLDENBERG E. O Coração Sente, O Corpo Dói: Como Reconhecer e Tratar a Fibromialgia. São Paulo: EditoraAtheneu, 2006.
7. GUYTON AC, HALL JE. Tratado de Fisiologia Médica. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
8. HAMMERLY M. Fibromialgia: Uma nova abordagem integrativa sobre como combinar o melhor das terapias tradicionais e alternativas. São Paulo: Editora Gaia, 2006.
9. LOWE JC, HONEYMAN GS, YELLIN J. Thyroid status of fibromyalgia patients. Clinical Bulletin of Myofascial Therapy, vol. 3, n. 1, p. 47-53, 1998.
10. LOMBA, M. Especialidades Médicas. Olinda: Editora Universo, 1999.
11. MARTINEZ, JE. Fibromialgia: o que é, como diagnosticar e como acompanhar?. Acta Fisiátrica, vol. 4, n. 2, p. 99-102, 1997.
12. MENDONÇA SCL, JORGE PT. Estudo da função tireoideana em uma população com mais de 50 anos. Arq Bras Endocrinol Metab 2002;46:557-65.
13. MOREIRAC, CARVALHO MAP. Noções Práticas de Reumatologia. Editora Health, 1996.
14. NEECK, G. Pathogenic mechanisms of fibromyalgia. Ageing research reviews, Oxford; v. 1, n. 2, p. 243-255, 2002.
15. GÓES SM, LEITE N, CIESLAK F, PAIVA E. Prevalência de hipotireoidismo em pacientes com fibromialgia. Revista Fisioter. Mov. 2008 abr/jun; vol. 21, n. 2, p. 125-133.
16. REZENDE LS; RADOMINSKI SC; PAIVA, ES. A relevância da dosagem do hormônio estimulante da tireoide em pacientes com fibromialgia. Rev. Bras. Reumatol. 2006, vol.46, n.1, pp. 73-74.
17. RIBERTO M, PATO, TR. Fisiopatologia da Fibromialgia. Acta Fisiátrica 2004; p.78-81. Disponível em: <http://www.actafisiatrica.org.br/v1%5Ccontrol/secure/Arquivos/AnexosArtigos/98F13708210194C475687BE6106A3B84/acta_vol_11_num_02_78-81.pdf>. Acesso em: 03 jun. 2008.
18. SHIROKY JB, COHEN M, BALLACHEY ML, NEVILLE C. Thyroid dysfunction in rheumatoid arthritis: A controlled prospective survey. Annals of the Rheumatic Diseases, vol. 52, p. 454-456, 1993.
19. WEIDEBACH, WFS. Fibromialgia: evidências de um substrato neurofisiológico. Revista da Associação Médica Brasileira, vol.48, no.4, p.291-291 - Oct./Dec. 2002.
20. WILSON J, WALTON JN. Some muscular manifestation of hypothyroidism. J Neurol Neurosurg Psychiatr 22: 320-324, 1959.
21. WOLFE F, SMYTHE HA, YUNUS MB, *et al.* The American College of Rheumatology 1990, Criteria for the Classification of Fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee Arthritis Rheum 33: 160-172, 1990.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Lisiane S. Zavalhia
Guilherme Alves, 125 ap.302
Porto Alegre- RS, Brasil
CEP: 90680-000
Fone/Fax: 51 8139.7749
lisi.zavalhia@hotmail.com

Dificuldades para adequar sua
documentação
às normas da Anvisa?
Conheça o PNCQ Gestor!



Desenvolvido para auxiliar laboratórios
na implantação de um Sistema de
Gestão da Qualidade, para quem quer se
preparar para Auditoria de Acreditação.

Para saber mais sobre o software PNCQ Gestor e o
calendário de treinamentos, acesse www.pncq.org.br
ou entre em contato com o Programa:

Rua Vicente Licínio, nº 193 - Tijuca - Rio de Janeiro
RJ | CEP: 20270-340 | Tel/Fax: 55 (0XX21) 2569-6867
Email: pncq@pncq.org.br

Análises laboratoriais mostram que paciente evoluiu para a Doença Granulomatose de Wegener: descrição de caso*

Analyses Laboratories show that patient developed for the Disease Wegener Granulomatosis: description of case

Talita Gandolfi¹; Maria T. G. Lang²

RESUMO - Granulomatose de Wegener (GW) é uma vasculite que apresenta uma série de manifestações clínicas, cada uma com mecanismo imunopatogênico distinto. Como outras vasculites necrosantes sistêmicas, os sintomas iniciais podem lembrar um quadro de doença infecciosa ou alérgica, envolvendo o trato respiratório superior, os pulmões e os rins. Sendo os mais freqüentes: infiltrados pulmonares, sinusite, artrite, febre, otite, tosse, rinite, hemoptise e doença renal. As principais características histológicas são formação de granuloma, vasculite e glomerulonefrite. O teste para identificação de anticorpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA) dirigido contra proteinase-3 (PR-3), é utilizado para diagnóstico e monitoramento da atividade inflamatória em vasculites sistêmicas primárias que acometem pequenos vasos. Relata-se um caso de paciente do sexo masculino, 70 anos, que iniciou o quadro com acentuada dispnéia e hemoptise.

Palavras-chave: Granulomatose de Wegener, vasculites, granuloma, ANCA.

SUMMARY - Wegener's granulomatosis (GW) is a vasculitis that introduces a series of clinical manifestations, each one with different mechanisms. As other vasculitis systemic necrotizing, the initial symptoms can remind a picture of disease infectious or allergic, involving the superior breathing treatment, the lungs and the kidneys. Being the most frequent: infiltrated lung, sinusitis, arthritis, fever, otite, coughs, rinite, hemoptise and renal disease. The main histological characteristics are granule formation, vasculitis and glomerulonephritis. The test for identification of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) driven against proteinase-3 (PR-3), it is used for diagnosis of the inflammatory activity in primary systemic vasculitis that you/they attack small vases. He/she tells himself a case of patient male, 70 years, that it began the picture with having accentuated dyspnea and hemoptysis.

Keywords: Wegener's granulomatosis, vasculitis, granule, ANCA.

INTRODUÇÃO

A doença granulomatose de Wegener (GW) foi primeiramente descrita em 1932 por Heinz Klinger. Em 1936 e 1939, Frederick Wegener publicou dois casos de pacientes que morreram de vasculite de pequenos vasos com inflamação granulomatosa⁶. Em 1954 Godman e Churg confirmaram as primeiras observações de Wegener, publicando uma revisão com vários casos, os quais ficaram conhecidos como granulomatose de Wegener⁸.

GW é uma doença sistêmica onde a vasculite de pequenos vasos, necrosante e granulomatosa, envolve o trato respiratório superior (orelhas, nariz, seios paranasais, garganta), o trato respiratório inferior (pulmões) e os rins. Todos os pacientes têm o trato respiratório envolvido, sendo a doença renal mais limitada^{7,13,14}. Ocorre em indivíduos de qualquer idade, etnia ou sexo, predominando em indivíduos caucasóides, do sexo masculino e na faixa dos 41 anos de idade^{9,14,15}. As síndromes vasculíticas caracterizam-se pela presença da inflamação na parede das artérias e das veias de qualquer tamanho. A inflamação pode alterar a estrutura do vaso, dificultar o fluxo do sangue no seu interior e até

levar à necrose. As vasculites necrosantes ocorrem pela inflamação e necrose dos vasos sanguíneos, resultando em oclusão do vaso e isquemia dos tecidos supridos pelos vasos envolvidos^{15,21}. As manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes são, lesões granulomatosas na cavidade oral, gengivite hiperplásica com recidiva⁵, febre, anorexia, emagrecimento, astenia, precedidos por indícios que simulam um quadro viral, com artralgias e mialgias. As manifestações do trato respiratório superior incluem sinusites, otite média, ulcerações nasais e rinorréia².

A doença renal é observada em 80% dos pacientes com GW, que caso não tratada é responsável direta ou indiretamente pela mortalidade^{13,15,22}. A uroanálise é semelhante à da glomerulonefrite aguda e da glomerulonefrite de progressão, com forte hematúria, alto nível de proteínas^{2,13,22} e oligúria, acompanhadas pela presença de cilindros hemáticos, hemácias dismórficas, leucócitos e velocidade de filtração glomerular muito baixa⁸. O aspecto histológico renal caracteriza-se por apresentar lesões necrotizantes segmentares nos capilares peritubulares e nos vasos retos da medula renal. Podem ser observados também granuloma de células gigantes e monócitos².

O envolvimento pulmonar pode ser observado com infiltrados nodulares cavitários múltiplos e bilaterais e^{2,4,7,13,14,15}

Recebido em 03/06/2008

Aprovado em 20/10/2010

¹Farmacêutica Bioquímica, Mestranda do PPG em Gerontologia Biomédica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul;

²Mestre em Ciências Biológicas, professora da Universidade Comunitária da Região de Chapecó

* Trabalho realizado no Laboratório Unimed, Hospital Uniclínicas, Universidade Comunitária da Região de Chapecó, Santa Catarina

na biópsia observa-se vasculite granulomatosa necrosante. Os infiltrados ocorrem em 85% a 90% dos casos, podendo ser assintomáticos ou apresentar tosse, hemoptise, dispnéia e desconforto torácico^{4,9,14,15}. As lesões das vias aéreas superiores apresentam inflamação, necrose e formação de granuloma, com ou sem vasculite^{14,15}.

Podem ocorrer na GW hemorragias subungueais, isquemia digital e gangrena digital^{14,7}. O envolvimento ocular aparece em 50% dos casos de GW¹⁵, variando de conjuntivite a dacriocistite, episclerite, esclerouveíte granulomatosa e vasculite de vasos ciliares à massa retroorbital, levando à proptose^{1,7,15}. Também observam-se em 50% dos pacientes lesões cutâneas como, pápulas, vesículas, púrpura palpável, úlceras ou nódulos subcutâneos. Manifestações neurológicas são encontradas em 25% dos casos com, neurite craniana, mononeurite múltipla ou vasculite cerebral com ou sem granuloma¹⁵. A inflamação meníngea apresenta-se na forma de cefaléia, neuropatias cranianas e um quadro clínico compatível com meningite crônica⁷. O comprometimento cardíaco, visto em 10% dos casos, manifesta-se com pericardite, vasculite coronariana ou raramente, cardiomiopatia¹⁵.

Segundo Bethlem (2002), a GW por apresentar manifestações hemorrágicas proteiformes prevalentes no sistema respiratório superior, muitas vezes levam o paciente ao hematologista, como suposto portador de doença hemorrágica. Sendo que, para confundir ainda mais o quadro com doença primária da hemostasia, pode-se muitas vezes, observar manifestações hemorrágicas na pele e no leito ungueal. Mas o estudo da hemostasia é normal na GW.

Para ajudar no diagnóstico dessa doença deve-se realizar o teste de anticorpo anticitoplasma de neutrófilos (ANCA)^{6,7}, mas mesmo que o ANCA der negativo não exclui a presença de Granulomatose de Wegener⁷. Pois a negatificação do ANCA tem boa correlação com as fases inativas da doença. Apesar da especificidade do ANCA, ele pode ser positivo em doenças infecciosas como endocardite, hepatopatias auto-imunes e em algumas formas de enterocolopatias inflamatórias, sem qualquer relação com o envolvimento vascular. Neste caso, a biópsia torna-se um diagnóstico diferencial e definitivo da vasculite². Dois padrões diferentes de ANCA são estabelecidos: um padrão de coloração citoplasmática (c-ANCA) que corresponde a anticorpos contra Proteinase 3 (PR3), sendo o mais freqüente em pacientes com GW, ocorrendo em 90% dos casos na fase ativa desta doença; e o padrão de coloração perinuclear (p-ANCA) que corresponde a anticorpos contra a mieloperoxidase (MPO)^{2,7,8,10,13,22}, sendo mais encontrado nas vasculites renais relacionado à poliangeíte microscópica, à glomerulonefrite crescêntica necrotizante e a alguns casos de GW. Achados menos específicos na GW incluem: velocidade de hemossedimentação e proteína C reativa elevadas, anemia, leucocitose e eventualmente, trombocitose².

A vasculite mediada pelo ANCA envolve a interação de neutrófilos polimorfonucleares (PMN) e células endoteliais, pela interação com as moléculas de adesão. O ANCA induz a ativação leucocitária, tendo citocinas e

metabólitos de lipídeos papel fundamental, que são derivados de PMN. O resultado final é a inflamação necrosante da parede dos vasos sanguíneos. Contudo, a coexistência de vasculite de pequenas artérias e veias, juntamente com granuloma, é a clínica mais típica de GW^{8,13,15}. O granuloma pode ser intra ou extravascular. O agente do trato respiratório que forma o granuloma é desconhecido, mas estudos imuno-histoquímicos mostram que infiltrados celulares em rins e lesões pulmonares contêm células T CD4+ e macrófagos. Células T CD4+ de lesões granulomatosas nasais e obtidas de lavado broncoalveolar expressam o perfil de citocinas do tipo Th1, o que estimula a resposta imune mediada por células. Isto sustenta a hipótese de que, devido às duas fases da evolução da GW, ocorre uma polarização de toda a subpopulação de células T (tipo Th1 versus Th2), o que pode explicar a transição de granuloma na fase inicial, de GW localizada, para a forma generalizada – vasculítica¹⁵. As células B também contribuem para a patogênese da GW, pois são precursoras diretas das células plasmáticas produtoras de anticorpos, que coestimulam e apresentam antígenos no interior dos granulomas. Ainda, são produtoras de citocinas (IL-6, IL-10, TNF- α) e células regulatórias¹⁰.

A sobrevida média dos pacientes após o diagnóstico de GW quando não tratada é de apenas cinco meses. Mas com o uso intensivo de corticosteróide e ciclofosfamida, a sobrevida em cinco anos é de 90%¹⁰. A corticoterapia isolada não previne as recidivas que freqüentemente ocorrem na GW². A ciclofosfamida (2 mg/kg/dia via oral) junto com altas doses de corticosteróides (1 mg/Kg/dia via oral) é a terapia inicial por 6 a 12 meses⁷. No estudo de Schmidt *et al.* (2005) paciente com diagnóstico de GW iniciou terapia com ciclofosfamida e prednisolona, reduzindo a doses gradativamente com a remissão contínua. Oito meses após a negatificação do título c-ANCA, a terapia foi alterada para metotrexato combinado com ácido fólico, levando o paciente ao alívio completo dos sintomas. É observado melhora acentuada em mais de 90% dos pacientes e remissões completas são conseguidas em 75%. Cerca de 50% das remissões estão associadas mais tarde a uma ou mais recidivas. Muitos pacientes que obtêm remissão continuam a ter títulos de ANCA elevados por anos. Portanto uma elevação do título de ANCA não é um precursor por si só de recidiva imediata da doença, não devendo levar ao reinício ou aumento de dose da terapia imunossupressora. O clínico deve examinar e monitorar cuidadosamente o paciente em busca de qualquer evidência de atividade da doença¹⁴. Além disso, deve-se controlar a hipertensão arterial da hipervolemia e empregar métodos dialíticos. A aplicação de plasmaférese pode auxiliar na recuperação de função renal nos doentes dependentes de diálise³. O tratamento com depleção de células B é ainda muito promissor, e a comprovação de sua eficácia necessita de mais estudos, já que os estudos clínicos randomizados realizados apresentam resultados conflitantes¹⁰.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados os exames laboratoriais de um paciente durante o período de 6 meses, compreendidos entre os

sintomas iniciais e o diagnóstico da doença. O paciente é do sexo masculino, com 70 anos de idade e procurou a emergência de um hospital apresentando acentuada dispnéia e hemoptise. Sessenta dias antes o paciente esteve internado no mesmo hospital para tratar uma infecção do trato urinário. O médico solicitou exame comum de urina e cultura de urina. Na análise microbiológica, a amostra foi semeada em ágar Salmanitol e MacConkey, ocorrendo crescimento neste último e juntamente com a realização de provas bioquímicas identificou-se resultado positivo para *Escherichia coli*.

O paciente possuía apenas um rim há 21 anos. Durante o exame clínico, foi constatada úlcera na perna direita que não respondia a tratamento iniciado há 30 dias e fortes dores articulares nas mãos. As amostras utilizadas para determinação dos parâmetros hematológicos foram processadas pelo contador ABX Micros 60. As distensões sanguíneas foram coradas pelo método Panótico e a morfologia celular avaliada no microscópio óptico marca Nikon EFD – 3. As amostras de sangue periférico para realizar os exames albumina, clearance de creatinina, clearance de uréia e proteína de 24 horas foram processadas pelo Bio Systems BTS – 310. ANCA por imunofluorescência indireta, anticorpos antiproteínas PR3, anti mieloperoxidase e anti-IgG membrana basal glomerular foram realizados pelo método de Elisa, complemento CH-50 por imunoenensaio enzimático, fator anti-nuclear e anticorpo anti-DNA de dupla hélice por imunofluorescência indireta, paratormônio PTH intacto por quimioluminescência, PCR, uréia, creatinina, foram processados no aparelho bio Mériex Vitek Systems Mini Vidas, e, potássio no aparelho AVL 9180 ElectrolyteAnalyzer.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O paciente estudado realizou vários exames, sendo que através dos resultados obtidos foi possível determinar GW e iniciar um tratamento adequado.

A capacidade do sangue em transportar oxigênio é possível através da concentração de hemoglobina, sendo possível através da mesma diagnosticar um estado anêmico⁹. Os valores de hematócrito e hemoglobina apresentados pelo paciente estão abaixo dos valores de referência, indicando um quadro anêmico. Estas alterações podem estar relacionadas ao quadro de hemoptise apresentada pelo paciente. A hemoptise juntamente com o quadro de dispnéia, são indicativos de doença pulmonar. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos como de Schmidt *et al.* (2005) e André *et al.* (2003), neste último paciente ao realizar exames para diagnóstico de GW apresentou hemoglobina com valores de 10,6 g/dL. No estudo feito por Cascaes *et al.* (2003) paciente apresentou hematócrito de 29%. Resultados de hematócrito e hemoglobina diminuídos também foram encontrados no estudo de Ettl *et al.* (2007) e Ribeiro *et al.* (2006), onde foi diagnosticado doença de Wegener.

Em nosso estudo de caso, o paciente apresenta leucocitose em várias leituras a qual pode estar relacionada à GW, já que um achado clínico-laboratorial típico é leucocitose moderada sem eosinofilia marcante, anemia normocrômica e

trombocitose^{8,9,22}. Por outro lado, o paciente apresentou um diagnóstico de infecção urinária. E processos infecciosos também são responsáveis por aumento no número de leucócitos. No estudo feito por Cascaes *et al.* (2003) paciente apresentou 12,40 x 10⁹/L leucócitos durante realização de exames para diagnóstico de GW. Resultados semelhantes foram encontrados por Ribeiro *et al.* (2006), 13,90 x 10⁹/L leucócitos e Schmidt *et al.* (2005) 16,20 x 10⁹/L.

É função dos neutrófilos (Bastões e Segmentados) a defesa ativa do organismo, desenvolvendo uma resposta ao dano tecidual, através de enzimas proteolíticas. Podendo sofrer aumento ou diminuição dependendo da situação patológica⁹. Neste caso o paciente apresenta um predomínio de neutrofilia, acompanhada de linfopenia em algumas leituras, o que pode estar relacionado ao processo inflamatório e necrotizante da GW e/ou a infecção apresentada pelo paciente. Resultados de neutrofilia foram encontrados em outros estudos de caso semelhantes a este^{4,6}.

A uréia e a creatinina são substâncias basicamente excretadas pelo rim através de filtração glomerular. Os resultados apresentados pelo paciente são elevados, o que indica uma redução da filtração glomerular, a qual além de estar relacionada à nefrectomização e idade do mesmo, tem relação com o processo infeccioso do trato urinário e a lesão renal da GW^{9,19}. Resultados semelhantes foram encontrados por Ribeiro *et al.* (2006), onde paciente com o mesmo caso do apresentado, obteve valores de 129 mg/dL de uréia e 3,20 mg/dL de creatinina.

A albumina é a principal proteína circulante no organismo humano e é responsável entre outras coisas, pelo transporte de substâncias pelo sangue e pela pressão coloidosmótica do plasma. O fígado é o único responsável pela produção de albumina, reduções na sua quantidade no sangue (hipoalbuminemia), ocorrem na cirrose, glomerulopatias, doenças granulomatosas (que é o caso do paciente estudado), colagenoses, infecções agudas, caquexia, queimaduras e doenças inflamatórias intestinais¹⁷.

A depuração de creatinina deve ser preferida ao invés da de uréia, por alguns motivos: o valor de depuração de uréia representa apenas uma fração da filtração glomerular; quando o fluxo urinário é alto, o segmento distal do nefro torna-se relativamente impermeável à uréia, o que aumenta a sua excreção e quando o fluxo urinário é baixo, a reabsorção de água no segmento distal do nefro aumenta a concentração intratubular de uréia, favorecendo a sua reabsorção¹⁹. A produção e a concentração plasmática de creatinina é muito estável, variando em menos de 10% por dia em indivíduos normais. Ela é livremente filtrada no glomérulo e não é reabsorvida pelo túbulo. Uma pequena quantidade é encontrada na urina derivada da excreção tubular. Na presença de baixas taxas de filtração, os valores de depuração de creatinina tornam-se cada vez mais imprecisos, uma vez que a fração tubular secretada constitui uma maior proporção da creatinina urinária total¹².

A uréia é filtrada no glomérulo, porém cerca de 40% a 50% da uréia filtrada são normalmente reabsorvidos nos túbulos proximais. Os níveis sanguíneos modificam-se em certo grau

Tabela 1: Resultados do hemograma para o diagnóstico de Granulomatose de Wegener

Parâmetros Hematológicos	Datas											
	18/05	19/05	20/05	23/07	26/07	28/07	01/08	03/08	15/08	22/08	29/08	05/09
Hgb (g/dL)	11,10	11,40	11,60	8,00	10,00	8,40	9,30	8,80	8,80	9,10	8,50	9,60
Hct (%)	34,20	35,00	34,90	24,40	30,00	26,40	29,50	27,10	27,30	28,30	26,60	30,20
Lctos (x 109/L)	10,60	8,60	9,40	10,50	22,50	21,70	13,00	13,30	9,00	10,10	7,00	10,10
Nflos (x 109/L)	9,22	7,14	6,86	8,61	19,13	19,31	11,31	10,51	8,28	7,27	5,69	7,78
Lftos (x 109/L)	0,85	0,86	1,79	1,47	3,15	1,74	1,43	1,99	0,54	2,32	1,64	1,82

Legenda com Valores de Referência (VR): Parâmetros Hematológicos (Par. Hemat.); VR Hemoglobina (Hgb): 13,5-17,5 g/dL; VR Hematócrito (Hct): 40-54 %; VR Leucócitos (Lctos): 3,60-11,00 x 10⁹/L; VR Neutrófilos (Nflos): 1,50- 7,00 x 10⁹/L; VR Linfócitos (Lftos): 1,00-4,00 x 10⁹/L. International Society for Laboratory Hematology (2010).

durante o dia e variam de acordo com a dieta e outras condições¹². Percebe-se no caso estudado, em relação aos valores de referência e os resultados obtidos, tanto o clearance de creatinina como o de uréia estão bastante diminuídos, sendo um fator que pode predispor o paciente a desenvolver uma glomerulonefrite.

Segundo Maffei *et al.* (2002), o sedimento urinário que apresentar proteinúria elevada com mais de 300 mg, na urina de 24 horas, é indicativo de glomerulopatia, sendo que um exame normal, não exclui essa possibilidade, devendo ser investigada em casos de vasculites sistêmicas, pois podem acometer os rins. Schmidt *et al.* (2005), encontraram em paciente com diagnóstico de GW proteinúria ligeiramente elevada, 163 mg/24h, de acordo com os valores de referência propostos por Pardini (2006/2007) (normal 20-150 mg/24h).

O Fator anti-nuclear Hep2 foi solicitado para descartar a possibilidade de lúpus eritematoso sistêmico (LES). Cerca de 98% dos pacientes com LES não tratado têm o teste de Hep2 positivo¹⁷.

No ANCA as metodologias empregadas são a imunofluorescência indireta (IFI), usando neutrófilos normais do sangue periférico como substrato antigênico e os imunoenaios enzimáticos (ELISA) que detectam ANCA específicos para proteinase 3 (PR3) ou mieloperoxidase (MPO)^{15,21}. Os ANCA interagem com as citocinas, os

neutrófilos, os monócitos e outros elementos do sistema imune para amplificar a inflamação contínua em certas formas de vasculites. A GW é tipicamente associada a anticorpos a PR-3, que causa um padrão de ANCA citoplasmático (C-ANCA) positivo, como visto no caso apresentado. 70% dos pacientes com anticorpos MPO causam uma coloração perinuclear do ANCA (P-ANCA) visto no exame por imunofluorescência^{7,21}, o que não pode ser observado neste estudo já que o P-ANCA está relacionado com poliangeíte microscópica, glomerulonefrite crescente, alveolite hemorrágica e síndrome de Churg-Strauss¹⁷. No estudo feito por Silva *et al.* (2007), dos 129 exames realizados para ANCA, 101 foram negativos e 28 positivos. Referente ao C-ANCA, dos 93 exames, 79 tiveram resultado negativo e 14 positivo. E para o P-ANCA, dos 36 exames realizados, 22 foram negativos e 14 positivos. Geyer *et al.* (2009), Pahor *et al.* (2006), Ribeiro *et al.* (2006) e Schmidt *et al.* (2005) também encontraram em seus estudos durante diagnóstico de GW, resultados para C-ANCA fortemente positivos.

Segundo Pardini (2006/2007), as proteínas do complemento aumentam em resposta a processos inflamatórios, como ocorreu neste estudo, ou infecciosos na resposta aguda. E diminuem no hipercatabolismo, na deficiência hereditária ou no consumo por formação de

Tabela 2: Resultados laboratoriais para o diagnóstico de Granulomatose de Wegener

Parâmetros Bioquímicos	Datas											
	18/05	20/05	21/07	23/07	26/07	28/07	01/08	03/08	15/08	22/08	29/08	05/09
Uréia (mg/dL)	77,80	83,50	64,20	103,90	105,20	119,30	167,50	193,00	109,00	107,80	108,10	111,90
Creat. (mg/dL)	2,30	2,80	2,70	3,40	3,80	3,50	3,10	4,00	4,80	3,40	3,40	3,40
Album. (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,80	-
Potás. (mEq/L)	-	-	-	-	3,90	-	-	4,10	-	3,70	-	-

Legenda com Valores de Referência (VR): Parâmetros Bioquímicos (Par. Bioqu.); VR uréia: 10-40 mg/dL; VR creatinina (Creat.): 0,7-1,2 mg/dL; VR albumina (Album.): 3,5-5,5 mg/dL; VR potássio (Potás.): 3,7-5,6 mEq/L. Pardini (2006/2007).

Tabela 2: Resultados laboratoriais para o diagnóstico de Granulomatose de Wegener

Parâmetros Bioquímicos	Datas					
	27 jul	28 jul	29 jul	11 set	19 set	17 out
Clearance creatinina (mL/min/1,73m ²)	24,10	-	-	-	-	-
Clearance uréia (mL/min/1,73m ²)	12,21	-	-	-	-	-
Proteína 24 hs (mg/24h)	54,20	-	-	-	-	-
Fator anti-nuclear	-	-	Negativo	-	-	-
P-ANCA C-ANCA	Negativo Reagente 1:320	-	-	-	Negativo Reagente 1:160	-
Complemento CH-50 (U/CAE)	-	128,0	-	-	-	-
Proteína C reativa (quantitativa) (mg/dL)	11,40	-	-	-	-	-
Anticorpo anti DNA de dupla hélice	-	-	Negativo	-	-	-
Anticorpos anti-IgG, membrana basal glomerular (U/mL)	-	-	0,20	-	-	-
Anticorpos anti proteínas PR3 (U/mL)	-	-	-	50,0	14,0	-
Anticorpos anti mieloperoxidase (U/mL)	-	-	-	2,0	-	-
Paratormônio PTH intacto (picog/mL)	-	-	-	-	-	53,0

Valores de Referência (VR): VR clearance creatinina: 85,0 a 130,0 mL/min/1,73m²; VR clearance uréia: 54,0 mL/min/1,73m²; VR proteína 24 hs: 20-150 mg/24h; VR fator anti-nuclear: negativo; VR P-ANCA e C-ANCA: negativo; VR complemento CH-50: 60,0 U/CAE; VR proteína C reativa (quantitativa): < 8,0 mg/dL; VR anticorpo anti DNA de dupla hélice: negativo; VR anticorpos anti-IgG, membrana basal glomerular: positivo > 15,0 U/mL; VR anticorpos anti proteínas PR3: positivo > 8,0 U/mL; VR anticorpos anti mieloperoxidase: negativo < 3,0 U/mL; VR paratormônio PTH intacto: 7,0 a 53,0 picog/mL. Pardini (2006/2007).

imunocomplexos (glomerulonefrites, LES, artrite reumatóide).

A proteína C reativa (PCR) é uma das primeiras proteínas de fase aguda que se alteram em resposta ao estímulo inflamatório. Como podemos perceber no paciente estudado, a PCR que tem valor de referência inferior a 8,0 mg/dL, encontra-se elevada^{15,22}. Sendo um excelente

parâmetro para medir a atividade inflamatória e a resposta terapêutica, quando dosadas por nefelometria ou turbidimetria¹⁵. Em estudos realizados por Ettl *et al.* (2007) e Schmidt *et al.* (2005), também encontraram PCR elevada num paciente onde foi diagnosticado GW.

Segundo Bethlem (2002), os testes de imunofluorescência indireta e ELISA para pesquisa de antiproteínase-3, os anticorpos anti-MPO e anti-DNA de dupla hélice e anti-MBG (membrana basal glomerular), fornecem performance razoável na investigação diagnóstica das causas de glomerulonefrite secundária, permitindo a classificação da maioria dos pacientes. Ainda, a presença de anticorpos reagentes contra a membrana basal glomerular é específico da *síndrome de Goodpasture*.

O acúmulo de imunocomplexos nos glomerúlos pode induzir a várias formas histológicas de glomerulonefrite. Na GW, não são encontrados na lesão renal evidências de deposição de imunocomplexos, o que corrobora com o resultado negativo para anticorpos anti-IgG, encontrado em nosso estudo de caso. O comprometimento renal é caracterizado por uma glomerulonefrite focal e segmentar que pode evoluir para uma glomerulonefrite em crescente, rapidamente progressiva. Uma vez que ocorra deficiência da função renal detectável clinicamente, em geral, segue-se insuficiência renal rapidamente progressiva, como ocorreu no paciente estudado¹⁴. No estudo de Pahor *et al.* (2006), paciente com diagnóstico de GW, apresentou na biópsia renal glomerulonefrite proliferativa focal e esclerosante.

Existe uma grande dificuldade em distinguir a GW de outras vasculites sistêmicas. Numa vasculite primária, quando na apresentação inicial com deterioração rápida do estado clínico, não é possível identificar um agente infeccioso ou doença neoplásica oculta, deve-se tomar providências terapêuticas visando inibir a resposta imune exacerbada do paciente, desde que esta seja responsável pela inflamação e necrose tecidual. Nestas situações é necessário uma conduta terapêutica inicial agressiva com considerações diagnósticas múltiplas, antes da determinação final do diagnóstico¹⁵.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados laboratoriais descritos e discutidos, o paciente apresentou um quadro clínico específico da doença Granulomatose de Wegener evoluindo para insuficiência renal crônica, necessitando fazer hemodiálise. As análises bioquímicas realizadas são específicas para doença de Wegener e vasculites de pequenos vasos. Sendo utilizados testes imunológicas, como a imunofluorescência, garantindo uma maior especificidade e sensibilidade, contribuindo para o diagnóstico correto, e assim administrar um tratamento seguro e confiável. Um grande problema a longo prazo da GW, é a alta taxa de recidiva, fazendo com que um monitoramento contínuo e adequado por profissionais especializados seja de fundamental importância para prevenção, proporcionando a estes pacientes uma melhor qualidade de vida.

REFERÊNCIAS

- 1- ANDRÉ, S.; CORREIA, J.M.; ABREU, M.C. - Granulomatose de Wegener – a propósito de um caso clínico. Rev. port. pneumol. 9 (1): 53-61, 2003.
- 2- BARROS R.T.; WORONIK, V.; PRADO E.B.A.; ANTUNES I. – Glomerulopatias Secundárias. In: RIELLA, M.C. – Princípios de Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrólíticos. 4. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2008. p. 424-449.
- 3- BETHLEM, Newton. Pneumologia. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. p. 957.
- 4- CASCAES, A.P.R.; CASCAES, V.M.; SOUZA, S.L.S.; CALDAS, C.A.M. - A importância das manifestações nasais na Granulomatose de Wegener: relato de um caso. Rev. braz. nefrol. 28 (2): 114-117, 2006.
- 5- ETTL, T.; PISTNER, H.; SCHWARZ, S.; REICHERT, E.; DRIEMEL, O. - Foudroyanter Verlauf einer therapierefraktären Wegener a. Granulomatose bei negativen c-ANCA. Mund- Kiefer- Gesichtschir., 11:73-80, 2007.
- 6- GEYER, M.; KULAMARVA, G.; DAVIS, A. - Wegener's Granulomatosis presenting with an abscess in the parotid gland: a case report. J. med. case rep., 19 (3): 1-4, 2009.
- 7- GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. – Cecil Medicine. 23. ed. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2008. p. 3078.
- 8- GROOT, K.; REINHOLD-KELLER, E. - Wegener-Granulomatose und mikroskopische Polyangiitis. Z. rheumatol., 68: 49-64, 2009.
- 9- HENRY, J.B - Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 20. ed. São Paulo, Manole, 2008. p. 1734.
- 10- HINZE, C.H.; COLBERT, R.A. - B-Cell Depletion in Wegener's Granulomatosis. Clin. rev. allergy immunol., 34: 372-379, 2008.
- 11- INTERNATIONAL SOCIETY FOR LABORATORY HEMATOLOGY. New Orleans. 2010. Disponível em: <http://www.islh.org/web/index.php?page=home>. Acesso em: 23 set. 2010.
- 12- KAPLAN, J.M.; FIRST, M.R. – Renal Function. In: KAPLAN, L.A.; PESCE, A.J. – Clinical Chemistry. 5. ed. St. Louis, Mosby, 2010. p. 1176.
- 13- KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N.; MITCHELL, R.N. – Robbins Patologia Básica. 8. ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2008. p. 1028.
- 14- LANGFORD, C.A.; FAUCI, A.S. – As Síndromes de Vasculite. FAUCI, A.S.; BRAUNWALD, E.; KASPER, D.L.; HAUSER, S.L.; LONGO, D.L.; JAMESON, J.L.; LOSCALZO, J.L. - Harrison Medicina Interna. 17. ed. São Paulo, McGraw-Hill, 2009. p. 2121-2131.
- 15- MAFFEI, F.H.A.; LASTÓRIA, S.; YOSHIDA, W.B.; ROLLO, H.A. - Doenças Vasculares Periféricas. 3. ed. Rio de Janeiro, Medsi, 2002. p. 1881.
- 16- PAHOR, D.; GRAENER, B.; GRACNER, T.; PAHOR, A. - Wegener-Granulomatose: ein diagnostisches Problem. Spektrum Augenheilkd., 20 (4): 196-199, 2006.
- 17- PARDINI, H. - Manual de Exames e Serviços: Instituto Hermes Pardini Ltda. Minas Gerais: Lastro, 2006/2007.
- 18- RIBEIRO, C.; NETO, M.S.C.; SILVA, G.M.C.; SANTOS, A.A.; PENIDO, M.G.M.G. - Granulomatose de Wegener: Apresentação Clínica e Tratamento. J. bras. nefrol., 28 (2): 114-117, 2006.
- 19- RIELLA, M.C.; PACHALY, M.A.; ZUNINO, D. – Avaliação Clínica e Laboratorial da Função Renal. In: RIELLA, M.C. – Princípios de Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrólíticos. 4. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2008. p. 267-293.
- 20- SCHMIDT, G.; GAREIS, R.; STÖRK, T. - Direct percutaneous coronary intervention for NSTEMI in a patient with seropositive Wegener's granulomatosis. Z. kardiol., 94: 583-587, 2005.
- 21- SILVA, B.C.; DECKER, H.; ANDRIGUETI, M.; VOLPATO, M.T.S.; TEIXEIRA R.M. - Anticorpos contra o citoplasma de neutrófilos. Rev. bras. anal. clin. 39 (3): 201-203, 2007.
- 22- WALLACH, J. – Interpretação de Exames Laboratoriais. 7. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2003. p. 1068.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Talita Gandolfi
Rua Miguel Tostes, Nº 934, apt 04
Bairro Rio Branco
Porto Alegre – RS, 80930000
Email: talita.gandolfi@acad.pucrs.br
talita_63@hotmail.com
biovitae@brturbo.com.br



*A Evolução
do seu laboratório*

**Acreditação de Sistema de Gestão da Qualidade de
Laboratórios Clínicos e de Organizações
Prestadoras de Serviços de Saúde**

*Faça como os melhores do país:
Seja um laboratório acreditado.*

Saiba mais. Acesse: www.dicq.org.br ou entre em contato conosco pelos telefones 21 2187-0830 ou 2187-0832 ou pelos e-mails: acreditacao@dicq.org.br e acreditacaodicaqona@dicq.org.br

Hemoglobina Glicada como ferramenta na avaliação do controle glicêmico de pacientes*.

The Glycated Hemoglobin as an evaluation tool on glycemic control of diabetic patients*.

Patrícia A. Gurgel Velasquez¹, Cristiane Agnes¹, Terezinha I. Estivalet Svidzinsk³.

RESUMO - *Diabetes mellitus* é uma síndrome de etiologia múltipla, caracterizada por hiperglicemia crônica que pode levar a alterações estruturais de tecidos e funções através da promoção da glicação de proteínas, entre elas a hemoglobina. A determinação da hemoglobina glicada é parâmetro de escolha para a monitorização do controle glicêmico do paciente diabético e sua dosagem deve ser feita, pelo menos, duas vezes por ano, uma vez que está ligada à evolução das complicações da doença. Após aprovação junto ao Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos, foram analisados os resultados das dosagens de hemoglobina glicada e dados como idade e gênero dos pacientes atendidos no primeiro semestre de 2006, no Laboratório de Análises Clínicas da UNIPAR, Umuarama, Paraná. As dosagens foram realizadas pela técnica de cromatografia de troca iônica em minicoluna. Foram atendidos 183 pacientes e 38% estavam com o controle glicêmico comprometido, não havendo diferença significativa entre gênero e idade dos pacientes. Trinta pacientes realizaram duas dosagens neste período e pôde-se notar diminuição significativa na concentração de hemoglobina glicada. A manutenção do nível de hemoglobina glicada nos valores de referência é considerada a principal meta no controle do diabetes.

Palavras-chave: *Diabetes mellitus*; Hemoglobina Glicada; Cromatografia de Troca Iônica; Controle Glicêmico.

SUMMARY - *Diabetes mellitus* is a syndrome of multiple etiologies, characterized by chronic hyperglycemia which can lead to any functional and tissue alteration throughout the protein gaining, among them, the hemoglobin. The glycated hemoglobin determination is considered a model of choice to control the level of glycemia on patients who suffers of diabetes and its dosage must be done, at least, twice a year, once it is closely connected to the disease evolution. Right after the research approval on the ethics committee involving human beings, it was made an analysis on the results of glycated hemoglobin dosages as well as on datas as age and gender of existing patients on the first semester of 2006, at Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Paranaense-UNIPAR. The dosages were executed through a chromatographic ionic technique in minicolumns. An amount composed by 183 patients had, as result, a glycemic endanger of 38%, without any relevant difference once considering age and gender. Thirty patients have taken two dosages by this period and it was able to realize that there was a presence of a significant reduction on glycated hemoglobin concentration. The maintenance of glycated hemoglobin on references level is considered the most important goal on diabetes control.

Keywords: *Diabetes mellitus*, Glycated Hemoglobin, Chromatographic Ionic Change, Glycemic Control.

INTRODUÇÃO

Segundo o Consenso Brasileiro sobre Diabetes¹⁶, "o *Diabetes mellitus* (DM) é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou da incapacidade da insulina de exercer adequadamente suas funções. Caracteriza-se por hiperglicemia crônica, freqüentemente acompanhada de dislipidemia, hipertensão arterial e disfunção endotelial".

Há pouco tempo, a classificação do DM era fundamentada na idade de início da doença ou no tipo de tratamento¹¹. Porém, recomenda-se, atualmente, a classificação baseada na etiologia. Assim, o DM do tipo 1 resulta da destruição das células β do pâncreas e é de natureza auto-imune ou idiopática, levando, geralmente, à deficiência absoluta de insulina; o DM do tipo 2, resultado de diferentes graus de resistência dos tecidos periféricos à insulina e distúrbios na secreção do hormônio pelo pâncreas; o diabetes gestacional

caracterizado pela diminuição da tolerância à glicose, diagnosticado pela primeira vez na gestação, podendo ou não persistir após o parto; e outras formas de DM, decorrentes de defeitos genéticos associados à outras doenças ou ao uso de fármacos diabetogênicos. Existem ainda duas formas chamadas de pré-diabetes que são a glicemia de jejum alterada e diminuição da tolerância à glicose¹⁸.

De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes¹⁷, 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). Porém, em alguns casos não há sintomas, ou estes podem ser vagos, como formigamento nas mãos e nos pés, principalmente no DM tipo 2.

O diagnóstico do DM deve ser baseado em três critérios: sintomas de diabetes confirmado por uma dosagem casual de glicose plasmática em que o valor seja igual ou superior a 200 mg/dL; glicemia plasmática de jejum igual ou

Recebido em 25/09/2008

Aprovado em 29/09/2010

¹Pós-graduandas do curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Análises Clínicas, Universidade Paranaense – UNIPAR, Umuarama- Paraná, Brasil.

²Professor Associado, Universidade Estadual de Maringá – Departamento de Análises Clínicas, UEM/DAC – Maringá- Paraná, Brasil

* Trabalho realizado no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Paranaense – UNIPAR – Campus Sede, Umuarama, Paraná.

superior a 126 mg/dL; ou glicemia plasmática duas horas após sobrecarga de glicose igual ou superior a 200 mg/dL. A presença de hiperglicemia em um dos testes acima deve ser confirmada em dia subsequente por qualquer um dos três critérios citados¹.

A presença de hiperglicemia persistente pode levar a alterações estruturais de tecidos e funções através da promoção da glicação não-enzimática de proteínas (ligação entre o grupo aldeído livre da glicose, ou outros açúcares, e um grupo amino-livre na molécula de proteína)⁶. A hemoglobina (Hb) é uma das muitas proteínas que sofrem esta reação⁹. A determinação da Hb que sofreu esta reação é parâmetro de escolha para a monitorização do controle glicêmico em longo prazo do paciente diabético⁶, uma vez que tem relação direta com a evolução das complicações da doença⁹.

Aproximadamente 90% da Hb humana adulta normal é hemoglobina A (HbA), formada por duas cadeias de globina alfa e duas beta ($\alpha_2 \beta_2$)¹⁹, sendo que cerca de 5% sofre glicação⁵. Quando hemolisados de células vermelhas são submetidos à cromatografia, três ou mais picos pequenos, chamados HbA1a, HbA1b e HbA1c eluem antes da HbA²⁰. Por esse motivo, são chamadas de "hemoglobinas rápidas"²⁴ e são produto de modificações pós-sintéticas da HbA, a uma velocidade dependente da concentração de glicose durante os 120 dias de vida do eritrócito. A HbA1c compõe 4,0 a 6,0% da Hb total nos indivíduos saudáveis. As outras variantes, HbA1a e HbA1b, correspondem, aproximadamente, 1% e 2%, respectivamente, da Hb total⁵. Esta heterogeneidade da hemoglobina glicada pode gerar confusão na nomenclatura, assim como qual componente está sendo dosado por determinado método. Desta forma, estabeleceu-se o termo genérico "hemoglobina glicada" (GHb) para denominar os componentes menores da Hb, incluindo todas as Hb modificadas com a glicose ou outros açúcares, bem como as outras Hb anômalas glicada (HbS, HbF, HbC)⁴.

A determinação da GHb deve ser feita, pelo menos, duas vezes por ano em todos os pacientes com diabetes¹⁴. A manutenção do nível da fração A_{1c} abaixo de 7,0% é considerada como uma das principais metas no controle do diabetes⁷.

Existem mais de 30 metodologias diferentes para a determinação da GHb^{13,14}. Estas dosagens podem ser feitas baseadas nas diferenças físicas, químicas ou imunológicas entre a fração glicada e a não-glicada. A cromatografia de troca iônica (HPLC e minicolunas) e a eletroforese usam o princípio da diferença de carga entre as frações. Dentre os métodos baseados nas diferenças estruturais ou químicas para separar as frações estão, a cromatografia de afinidade, os métodos imunológicos e os enzimáticos⁶.

Visto isso, este estudo teve como objetivo avaliar o controle glicêmico dos pacientes diabéticos atendidos no Laboratório de Análises Clínicas da UNIPAR, durante o primeiro semestre de 2006, de acordo com a metodologia utilizada e correlacionar com o risco destes pacientes desenvolverem complicações crônicas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para o presente estudo foram interpretados os resultados das dosagens de GHb e dados como idade e gênero dos pacientes atendidos no período de janeiro a junho de 2006, no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Paranaense – UNIPAR, Umuarama – PR. Os dados foram coletados a partir das fichas do arquivo do laboratório, após aprovação junto ao Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos. No período avaliado, 183 pacientes realizaram pelo menos uma dosagem de GHb compondo a população de estudo, destes 30 pacientes realizaram duas dosagens.

As dosagens de GHb (HbA1) foram realizadas pela técnica de cromatografia de troca iônica em coluna da marca Labtest®¹⁰, cujo valor de referência é de 5,3 a 8,0% e linearidade de até 30%.

A análise estatística foi realizada através do programa Epi Info para Windows (versão 3.2) pelo teste t de Student e análise de variância, com $\alpha = 0,05$. Os dados são apresentados como média (\pm DP), valores de mínimo e máximo e intervalo de confiança.

RESULTADOS

A distribuição dos 183 pacientes quanto ao gênero foi 67,8% (n=124) mulheres e 32,2% (n=59) homens. As médias das dosagens de GHb obtidas dos pacientes são descritas na Figura 1. Na população masculina, a menor dosagem foi de 3,9% e a maior 19,1%; na feminina os valores ficaram entre 4,0% e 18,2% (Tabela 1).

Tabela 1 - Dosagens de hemoglobina glicada de 183 pacientes determinadas pelo método de cromatografia de troca iônica em minicoluna, conforme o gênero.

	Sexo	
	Masculino	Feminino
Número	59	124
Média*	10,2 % ^A	9,9 % ^A
Desvio Padrão	2,8	2,4
Mínimo	3,9 %	4,0 %
Máximo	19,1 %	18,2 %
IC 95%	9,5 – 10,9	9,5 – 10,3

* Médias seguidas de letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos, pelo teste t de Student, com $\alpha = 0,05$.

Para fins de cálculo, os pacientes foram agrupados em cinco classes, de acordo com a idade. Na primeira classe (21,0 a 35,2 anos) foram incluídos seis pacientes, com os valores de GHb dosagem mínima e máxima de 8,1% e 19,1%

Tabela 2: Distribuição dos resultados de hemoglobina glicada, conforme a idade dos pacientes.

	Faixas Etárias em Anos				
	21,0 a 35,2	35,3 a 49,4	49,5 a 63,6	63,7 a 77,8	77,9 a 92,0
Número de pacientes	59	124	63	65	15
Média*	10,2 % ^A	9,9 % ^A	9,6% ^A	10,3% ^A	9,5% ^A
Desvio Padrão	2,8	2,4	1,9	2,4	2,6
Mínimo	3,9 %	4,0 %	5,6%	4,0%	3,9%
Máximo	19,1 %	18,2 %	14,2%	16,2%	13,9%
IC 95%	9,5 – 10,9	9,5 – 10,3	9,2 – 10,1	9,7 – 10,9	8,0 – 10,9

* Médias seguidas de letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos, pelo teste t de Student, com $\alpha = 0,05$.

respectivamente. Na segunda classe (35,3 a 49,4 anos), incluindo 34 pacientes, a mínima foi de 4,7 % e a máxima de 18,2%. Entre os 63 pacientes agrupados na terceira classe (49,5 a 63,6 anos), a dosagem de hemoglobina glicada variou entre 5,6 % e 14,2 %. Na quarta classe (63,7 a 77,8 anos) os 65 pacientes estudados apresentaram mínima de 4,0 % e máxima de 16,2 %, e na quinta classe (77,9 a 92,0 anos) a mínima e a máxima, respectivamente, foram 3,9 % e 13,9 % dos 15 pacientes (Tabela 2).

Entre os 30 pacientes, dos quais foram realizadas duas dosagens de GHb no período, foi calculada a média da primeira e da segunda visando avaliar a evolução do tratamento. Os resultados são mostrados na Tabela 3.

De acordo com o definido pelo fabricante do kit utilizado, os resultados obtidos permitiram classificar os pacientes conforme a Figura 2, quanto aos níveis metabólicos, em ótimo (< 8,8%), aceitáveis ($\leq 11,2%$) e sugerindo comprometimento (> 11,2%).

Tabela 3: Resultados de hemoglobina glicada obtidos em 30 pacientes que se submeteram a duas dosagens durante o primeiro semestre de 2006*.

	Dosagens	
	Primeira	Segunda
Média**	10,1% ^A	9,3% ^B
Desvio Padrão	2,5	2,1
Mínima	6,6%	5,5%
Máxima	16,1%	13,9%
IC 95%	9,2 – 11,0	8,6 – 10,0

* Tempo médio entre as duas dosagens – três meses.
 **Médias seguidas de letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos, pelo teste t de Student para amostras pareadas.

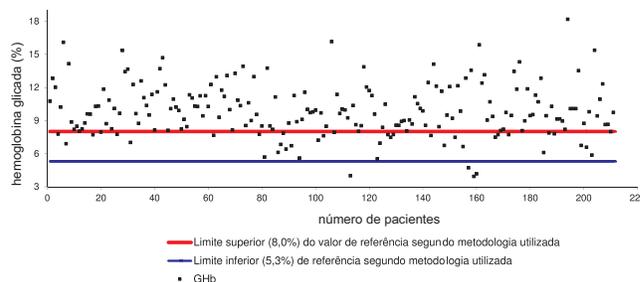


Figura 1: Distribuição dos resultados das dosagens de HbA1c na população estudada em comparação aos valores de referência* do método de cromatografia de troca iônica em minicolumna.

Nível de controle glicêmico

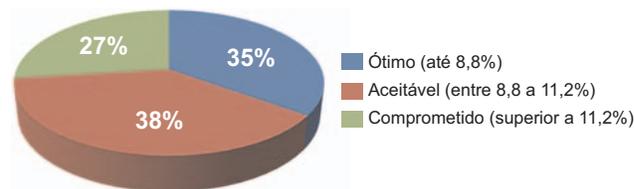


Figura 2: Classificação dos 183 pacientes analisados em relação aos níveis metabólicos estabelecidos para o teste Labtest Diagnostica S. A.

DISCUSSÃO

O teste t de Student, com $\alpha = 0,05$, mostra que as dosagens de GHb não apresentaram diferença significativa conforme gênero e idade dos pacientes o que confirma o descrito por Sacks *et al.*¹⁴. Segundo os autores, idade, gênero ou etnia não interfere de forma significativa nos resultados dos testes de GHb.

Observou-se que quatro pacientes apresentaram resultados abaixo do limite inferior do método. Enfermidades que alteram a vida média da hemácia e consequentemente da hemoglobina, como as doenças hemolíticas, alteram os resultados de GHb realizados por qualquer metodologia. Também a presença de grandes quantidades de vitaminas C e E

é descrita como fator que pode induzir resultados falsamente diminuídos por inibirem a glicação da hemoglobina^{3,4,10}. Hipertrigliceridemia, hiperbilirrubinemia, uremia, alcoolismo crônico, ingestão crônica de salicilatos e opiáceos podem interferir produzindo resultados falsamente elevados, assim como anemia por carência de ferro, vitamina B12 ou folato, já que estas anemias aumentam a sobrevivência das hemácias^{4,7,10}. Outro limite na determinação seria a presença de hemoglobinas anômalas, como a hemoglobina F (leva a resultados falsamente elevados) e as hemoglobinas S e C (interferem negativamente nas dosagens)¹⁰.

Durante o período em que os dados foram coletados, 30 pacientes realizaram duas determinações de GHb. Observou-se uma diminuição média de 0,8% entre a primeira e a segunda dosagem. De acordo com os valores de referência do método utilizado, tanto a primeira como a segunda dosagem estão dentro dos limites aceitáveis de controle glicêmico, porém, acima do valor considerado como ótimo para o controle. Assim, este resultado mostra que, apesar de não terem atingido níveis ideais para o controle glicêmico, estes pacientes diminuíram significativamente a concentração da GHb (pelo teste t de Student para amostras pareadas). Estudo realizado pelo United Kingdom Prospective Diabetes Study²¹, mostrou que para cada 1,0% de decréscimo na concentração de HbA1c, houve diminuição de 35%, 25% e 7% no risco de complicações microvasculares, mortes relacionadas ao DM e mortes em geral, respectivamente.

Complicações crônicas podem acompanhar o DM como macroangiopatia (comprometimento aterosclerótico das artérias coronarianas, dos membros inferiores e das cerebrais) e microangiopatia (retinopatia, nefropatia e neuropatia), as quais estão associadas à elevada morbidade e mortalidade observadas nestes pacientes. A nefropatia diabética aparece como a causa mais comum de doença renal terminal, acometendo mais de um terço dos casos^{9,15}. Em trabalho realizado no Rio Grande do Sul com pacientes em hemodiálise, Morsch *et al.*¹² observaram que o DM aparecia como principal causa de desenvolvimento de Insuficiência Renal Crônica (29%), e que a mortalidade entre os diabéticos no período estudado foi de 33% contra 7,0% entre os não-diabéticos.

No presente estudo pode-se notar o descontrole da população avaliada em relação aos níveis glicêmicos, já que 38% destes pacientes apresentaram dosagens acima de 11,2% de GHb (HbA_{1c}). Porém, Scheffel *et al.*¹⁵, em estudo dos fatores de risco e da prevalência de complicações crônicas em pacientes com DM no Rio Grande do Sul (RS), observaram que 68% da população estava com o controle glicêmico comprometido, um resultado bem acima dos 38% do presente trabalho. Já Araújo *et al.*², em trabalho realizado também no RS, encontraram 34,1% da população estudada com níveis comprometidos de controle, ou seja, resultado semelhante ao dos pacientes estudados em Umuarama, Paraná.

De acordo com o Consenso Brasileiro sobre Diabetes¹⁶, as estratégias incluídas no tratamento do DM são educação, modificações no estilo de vida (hábito de fumar,

alimentação e atividade física) e, quando necessário, o uso de medicamentos.

É importante ressaltar que, devido à gama de técnicas existentes no mercado, torna-se difícil realizar estudos comparativos sobre o controle glicêmico na população. Gross *et al.*⁶ alertaram para o fato de, os valores fornecidos por um laboratório poderem não corresponder aos valores de outro, o que torna a comparação dos resultados muito difícil. Portanto, é preciso que fiquem claras, tanto para a equipe médica quanto ao paciente, as limitações da dosagem para que o significado clínico do exame seja garantido⁴, que os níveis de GHb demoram de 8 a 10 semanas, aproximadamente, para retornarem ao normal após a normalização dos níveis de glicose sanguínea⁷ e que o controle glicêmico depende de fatores relacionados ao paciente, ao serviço de saúde e à realidade social local².

CONCLUSÃO

Sugere-se maior preocupação no sentido de padronização das técnicas a serem utilizadas na dosagem da hemoglobina glicada e que essas sejam de implementação acessível aos laboratórios de todos os portes. Que os programas de educação em saúde se preocupem com a capacitação de profissionais que atuam em centros de atendimento ao paciente diabético (postos de saúde, ambulatórios, clínicas) para que sejam devidamente esclarecidos sobre o significado do exame e suas implicações, para que possam interpretar corretamente o resultado. Assim, o aprimoramento das técnicas laboratoriais e das equipes multidisciplinares que acompanham o paciente diabético são esforços que em conjunto colaboram para ampliar o conhecimento sobre o DM e sensibilizam o paciente a adotar hábitos de vida mais saudáveis, reduzindo as altas taxas de incapacidade física e mortalidade por *diabetes mellitus*.

AGRADECIMENTOS

Ao Coordenador do Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Paranaense - UNIPAR – Campus Sede, Umuarama, Francisco Hiroshi Matumoto e demais funcionários e colegas e ao professor Dr. Aristeu Vieira da Silva.

REFERÊNCIAS

- 1- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of *diabetes mellitus*. *Diabetes Care*, 31 (1): 55–60, 2008.
- 2- ARAÚJO, R.B.; SANTOS, I.; CAVALETI, M.A.; COSTA, J.S.D.; BÉRIA, J.U. Avaliação do cuidado prestado a pacientes diabéticos em nível primário. *Rev Saúde Pública*, 33(1): 24-32, 1999.
- 3- BEM, A.F. & KUNDE, J. A importância da determinação da hemoglobina glicada no monitoramento das complicações crônicas do *diabetes mellitus*. *J Bras Patol Med Lab*, 42 (3): 185–191, 2006.
- 4- CAMARGO, J.L. & GROSS, J.L. Glico-hemoglobina (HbA1c): Aspectos clínicos e analíticos. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 48 (4): 451-463, 2004.
- 5- ELGHETANY, M.T. & DAVEY, F.R.. Distúrbios Eritrocitários. In: HENRY, J.B. *Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais*. 20ª edição. São Paulo: Manole Ltda, 2008: 652-3.
- 6- GROSS, J.L.; SILVEIRO, S.P.; CAMARGO, J.L.; REICHEL, A.J. *Diabetes Mellito: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico*. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 46 (1): 16–26, 2002.

- 7- GRUPO INTERDISCIPLINAR DE PADRONIZAÇÃO DA HEMOGLOBINA GLICADA – A1c. A importância da hemoglobina glicada (A1c) para a avaliação do controle glicêmico em pacientes com diabetes mellitus: aspectos clínicos e laboratoriais, 2004. Disponível em: < <http://www.diabetes.org.br/educacao/docs/hemoglic2004.pdf> >. Acesso em 25/03/2008.
- 8- KNUDSON, P.E.; WEINSTOCK, R.S.; HENRY, J.B. In: HENRY, J.B. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 20ª. edição. São Paulo: Manole Ltda, 2008: 252.
- 9- KRISHNAMURTI, U.; STEFFES MW. Glycohemoglobin: a primary predictor of the development or reversal of complications of *diabetes mellitus*. *Clinical Chemistry* 2001; 47 (7): 1157-1165p.
- 10- LABTEST DIAGNOSTICAS.A. Hemoglobina Glicada, 1999.
- 11- MAITRA, A.; ABBAS, A.K. O Sistema Endócrino. In: KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. Robbins e Cotran Patologia – Bases Patológicas das Doenças, 7ª. Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006: 1244 e 1260p.
- 12- MORSCH, C.; GONÇALVES, L.F.; BARROS, E. Índice de gravidade da doença renal, indicadores assistenciais e mortalidade em pacientes em hemodiálise. *Rev Assoc Med Bras*, 51(5): 296-300, 2005.
- 13- NUTTALL, F.Q. Comparison of percent total GHB with percent HbA1c in people with and without known diabetes. *Diabetes Care*, 21 (9): 1475-1480, 1998.
- 14- SACKS, D.B.; BRUNS, D.E.; GOLDSTEIN, D.E.; MACLAREN, N.K.; MCDONALD, J.M.; PARROTT, M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of *diabetes mellitus*. *Clinical Chemistry*, 48 (3), 436 – 472, 2002.
- 15- SCHEFFEL, R.S.; BORTOLANZA, D.; WEBER, C.S.; COSTA, L.A.; CANANI, L.H.; SANTOS, K.G.; CRISPIM, D.; ROISENBERG, I.; LISBÔA, H.R.K.; TRES, G.S.; TSCHIEDEL, B.; GROSS, J.L. Prevalência de complicações micro e macrovasculares e de seus fatores de risco em pacientes com diabetes melito do tipo 2 em atendimento ambulatorial. *Rev Assoc Med Bras*, 50(3): 263 – 7, 2004.
- 16- SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Consenso Brasileiro sobre Diabetes 2002:

- diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito do tipo 2. Disponível em: < http://www.diabetes.org.br/educacao/docs/consenso_atual_2002.pdf >. Acesso em 25/03/2008.
- 17- SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Atualização Brasileira sobre Diabetes, 2005. Disponível em: < <http://www.diabetes.org.br/educacao/docs/atualizacaodiabetes2006.pdf> >. Acesso em 20/11/2007.
- 18- SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Tratamento e acompanhamento do *Diabetes mellitus* – Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes, 2007. Disponível em: <http://www.diabetes.org.br/educacao/docs/Diretrizes_SBD_2007.pdf> Acesso em 01/08/2008.
- 19- TELEN, M.J. O Eritrócito Maduro. In: Lee, G.R.; BITHELL, T.C.; FOERSTER, J.; ATHENS, J.W.; LUKENS, J.N. Wintrobe Hematologia Clínica, volume I. São Paulo: Manole Ltda, 1998: 103 – 138.
- 20- THREATTE, G.A. & HENRY, J.B. Carboidratos. In: HENRY, J.B. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 19ª. Edição. São Paulo: Manole Ltda, 1999: 203.
- 21- U.K. PROSPECTIVE DIABETES STUDY (UKPDS) GROUP. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*, 352: 837 – 851, 1998.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Prof. Dr. Alexandre M. Fuentefria,
Universidade Federal do Pampa, Campus de Uruguaiana,
BR 472 - Km 592, - Uruguaiana, RS, CEP 97500-970, Brasil
e-mail: alexmf77@gmail.com

SBAC consolidando o futuro através do conhecimento



Participe!



www.sbac.org.br

Rua Vicente Licínio, 99 Tijuca
Rio de Janeiro - RJ - Brasil
CEP: 20270-902

Fone: (21) 2187 - 0800
Fax: (21) 2187 - 0805
E-mail: geral@sbac.org.br

Relato de dois casos de *Tinea nigra* na cidade de Caxias do Sul, RS, Brasil*

Report of two cases of *Tinea nigra* in the city of Caxias do Sul, RS, Brazil*

Barbara C. A. Zoppas¹, Francieli Casal², Juliano Fracasso³, Caroline U. Triaca²

RESUMO - *Tinea nigra* (TN) é uma micose superficial causada por um fungo demáceo, *Hortae werneckii*, que afeta a camada córnea palmar e, mais raramente, a região plantar e outros locais. Caracteriza-se pelo aparecimento de máculas hiper-pigmentadas de cor marrom-enechecido, bem delimitadas, não inflamatórias e assintomáticas. Esta dermatomicose é também denominada queratomicose epidérmica, queratomicose negra, pitiríase negra e *microsporiasis nigra*, sendo considerada uma infecção fúngica rara, mais comumente encontrada em regiões tropicais e subtropicais. Neste trabalho serão descritos dois casos da micose em região palmar: em menino de 4 anos residente em Caxias do Sul, RS e em estudante universitária, com 23 anos, residente em Farroupilha, RS. Serão abordados tópicos epidemiológicos e clínicos da infecção. Estes constituem os únicos casos descritos na região nordeste do Rio Grande do Sul, até o momento, demonstrando a raridade da infecção nesta área geográfica.

Palavras-chave: Micoses, *Tinea nigra*, *Hortae werneckii*.

SUMMARY - *Tinea nigra* (TN) is a superficial fungal mycosis caused by a dematiaceous fungus, *Hortae werneckii*, which affects the palms stratum corneum and more occasionally on the soles and other body parts. Is characterized by macules with hyper pigmentation with brown to black pigmentation well delimited, no-inflammatory and asymptomatic. This dermatomycosis is also called epidermic keratomycosis, keratonicosis nigricans, pityriasis nigra and microsporiasis nigra, being considered a rare fungal infection, occurs most frequently in tropical and subtropical climates regions. This study will describe two case reports of this mycosis in palm region: a boy 4 years old who lives in the city of Caxias do Sul, RS and a University academic, woman, 23 years old living in the city of Farroupilha, RS. Epidemiologic and clinic topics will be reported. These are the only described cases in the northeast region of the State of Rio Grande do Sul, showing the rarity of the infection in this geographic area.

Keywords: Mycosis, *Tinea nigra*, *Hortae werneckii*

INTRODUÇÃO

Tinea nigra (TN) é micose superficial causada por um fungo demáceo denominado *Hortae werneckii*, que afeta a camada córnea palmar e, mais raramente, a região plantar e outros locais. Caracteriza-se pelo aparecimento de máculas hiperpigmentadas de cor marrom-enechecido, bem delimitadas, não inflamatórias e cobertas por escamas muito finas e assimétricas^{1,7,12}.

O fungo vive como saprófita no solo e em vegetais ou faz parte da flora cutânea normal. O desenvolvimento da micose depende da inoculação traumática, provavelmente em praias, favorecida pela sudorese excessiva¹.

Esta dermatomicose é também denominada ceratomicose epidérmica, queratomicose negra, pitiríase negra e *microsporiasis nigra*, sendo considerada uma infecção fúngica rara, mais comumente encontrada em regiões tropicais e subtropicais^{1,7}.

O objetivo deste trabalho foi relatar dois casos de TN diagnosticados na cidade de Caxias do Sul, região nordeste do Rio Grande do Sul.

RELATO DE CASOS

Caso 1

Paciente masculino, 4 anos, residente no bairro de Ana Rech, na cidade de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, apresentava mancha de coloração castanho clara, levemente descamativa, com um centímetro de diâmetro, na palma da mão esquerda. Não relatava prurido ou outro sintoma. Foi realizado exame micológico direto com escamas de pele obtidas por raspagem da lesão. Ao exame microscópico foram observadas hifas curtas septadas e células leveduriformes isoladas, com coloração castanho-esverdeadas, características do fungo *Hortae werneckii* (Fig.1). O cultivo não foi realizado considerando a escassez do material que foi totalmente utilizado para o exame micológico direto. A tentativa de nova coleta para realização de cultura não obteve sucesso pelo desaparecimento da lesão na primeira coleta. Mesmo assim, o paciente foi tratado com antifúngico imidazólico tóxico, com remissão total da lesão.

Caso 2

Paciente feminino, 23 anos, acadêmica de Biologia e bolsista no laboratório de Botânica, residente na cidade de

Recebido em 14/04/2009

Aprovado em 17/09/2010

¹Professora de Micologia da Universidade de Caxias do Sul - UCS

²Acadêmica do Curso de Farmácia - UCS

³Médico Residente em Infectologia do Hospital Geral de Caxias do Sul

* Trabalho realizado no Laboratório de Micologia da Universidade de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul.

Farroupilha, Rio Grande do Sul, apresentava lesão de coloração levemente rosada, com aproximadamente três centímetros de diâmetro, pouco perceptível e discreta descamação, na palma da mão esquerda (Fig. 2). Após raspagem dos bordos da lesão, as escamas foram colocadas em lâmina com posterior adição de hidróxido de potássio a 10%, lamínula e visualização ao microscópio de luz, tendo sido identificadas hifas e leveduras de cor castanho-esverdeadas típicas de *Hortae werneckii*. O cultivo do fungo não foi realizado. O tratamento foi realizado com antifúngico imidazólico tópico, obtendo-se a cura da lesão.



Figura 1: Lesão típica de *Tinea nigra* em mão esquerda.

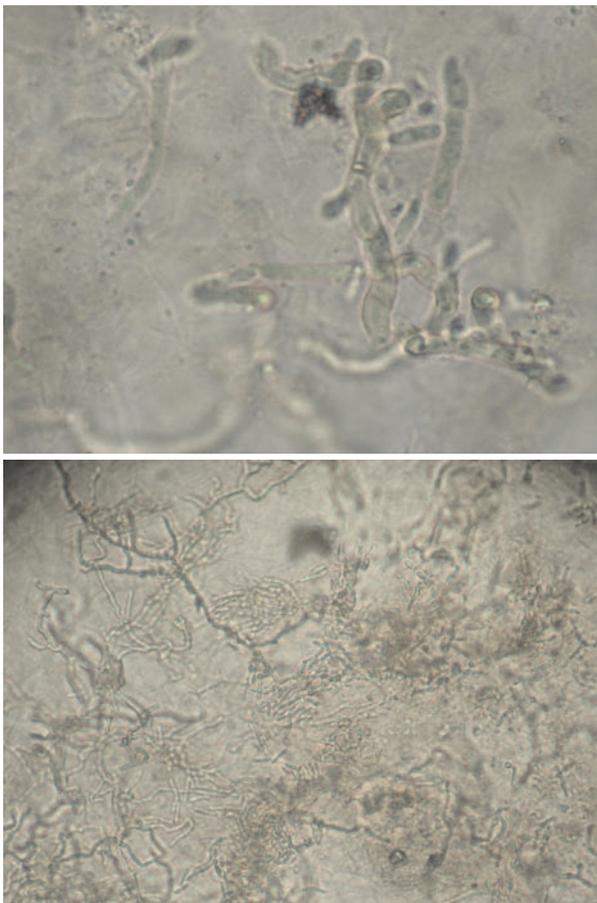


Figura 2: Aspecto microscópico do fungo *Hortae werneckii* ao exame direto.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A TN é uma micose considerada enfermidade tropical e subtropical, pouco frequente e de distribuição universal. Na América Latina os países com maior incidência são México, Panamá, Colômbia, Venezuela, Brasil, Cuba e Costa Rica. Também já foi reportada na Polinésia e na costa da África e na Ásia, sendo pouco descrita nos Estados Unidos e Europa^{5,7}.

Afeta todos os grupos sociais, sobretudo mulheres, crianças e jovens com menos de 20 anos de idade, que vivem ou visitaram áreas de risco (matas ou praias). Todas as raças são afetadas, não existindo predisposição genética e, tanto as infecções como as recidivas (que são raras), são por uma exposição a uma fonte infecciosa comum, provavelmente favorecida por sudorese abundante^{2,3,6}.

O agente causador é o *Hortae werneckii*, um fungo negro, pleomórfico e saprófito do solo, vegetais em decomposição, madeiras úmidas, ar, peixes em decomposição e areia de praia, podendo também ser componente da flora normal (couro cabeludo e espaços interdigitais). Os casos tem sido associados com frequência à contaminação em áreas costeiras, mostrando a possibilidade de ser infecção fúngica adquirida à beira mar. Uijthof e colaboradores, em 1994 identificaram este fungo em áreas ricas em sal. *Hortae werneckii* inicialmente é uma levedura que logo se transforma em fungo filamentosos^{1,2,4,5,7,9,10,11,12}.

A enfermidade foi identificada em 1891, no Brasil, por Alexandre Cerqueira, como *queratomicose nigrans palmaris*, mas, somente em 1916, seu filho, Castro Pinto Cerqueira, relatou-a em sua tese de doutorado, juntamente com outros oito casos por ele observados^{1,14}.

Em 1921, João Ramos e Silva e José Torres observaram o primeiro caso no Rio de Janeiro e, Parreras Horta, no mesmo ano, isola o fungo deste caso e denomina-o de *Cladosporium werneckii*. Posteriormente, o nome do fungo foi mudado para *Exophiala werneckii*, baseado em estudos de conidiogênese. Em 1985, McGinnis e colaboradores propuseram um novo gênero ao fungo, que passou a ser denominado de *Phaeoannellomyces werneckii*. No mesmo ano, Nishimura & Miyaji mudaram a denominação do fungo para *Hortae werneckii*, em homenagem a Parreras Horta^{1,2,3,14}.

O diagnóstico específico é fácil de ser realizado, empregando métodos micológicos tradicionais para evidenciar a presença deste microrganismo no paciente. O exame direto pode ser feito com hidróxido de potássio a 10-20%, mostrando hifas marrons ou verde escuras, ramificadas e septadas, com extremidades finas e hialinas. A confirmação é feita pelo isolamento do fungo em ágar-Sabouraud simples ou com cicloheximida e cloranfenicol a 0,5%. Em uma a três semanas, desenvolvem-se colônias leveduriformes pretas e brilhantes que se tornam verdes ou cinzas com aparecimento de hifas aéreas. As colônias maduras possuem hifas tortuosas septadas e conidióforos em anéis que produzem cachos de conídios fusiformes com septos^{5,9,13,14}.

O tratamento da TN é feito com derivados imidazólicos tópicos², solução de ácido salicílico a 2-3%, tintura de iodo,

enxofre a 3% e ácido retinóico. Reporta-se, inclusive, que a raspagem micológica pode melhorar e fazer desaparecer a lesão⁶.

Os casos de TN são raros em Caxias do Sul, por se tratar de zona geográfica com clima temperado. Os casos relatados referem-se a pessoas que tiveram contato com o solo e vegetais, fontes ambientais do fungo. Vale salientar que como relatado por outros autores, esta micose pode ser eliminada pela simples raspagem durante a coleta, o que ocorreu justamente com o primeiro caso relatado. Mesmo assim, foi instituído o tratamento para garantia de eliminação do fungo.

Apesar de ser uma micose rara, a possibilidade da ocorrência de *Tinea nigra* deve ser sempre lembrada quando se tratar de lesão hipercrômica negra ou acastanhada, em região palmar ou plantar. Por ser de fácil tratamento e possuir um prognóstico excelente, o diagnóstico de *Tinea nigra* exclui outras lesões como nevo melanocítico, melanoma, sífilis secundária, que exigem tratamentos mais invasivos e agressivos.

REFERÊNCIAS

- 1- ARENAS, R. *Micología Médica Ilustrada*, 1. ed. México: Nueva Editorial Americana, p. 87-89, 1993.
- 2- DINATO, S. L. M.; ROMITI, N.; ALMEIDA, J. R. P.; CAMARGO, F. A. A. *Tinea nigra* na cidade de Santos: relato de cinco casos. *An Bras Dermatol*, 77(6): 713-718, nov./dez. 2002.
- 3- DINIZ, L. M. Estudo de nove casos de tinea negra observados na Grande Vitória (Espírito Santo, Brasil) durante período de cinco anos. *An Bras Dermatol*, 79(3): 305-310, maio/jun. 2004.

- 4- FISHER, F.; COOK, N. B. *Micologia: Fundamentos e Diagnóstico*. Rio de Janeiro: Revinter, p. 104-105, 2001.
- 5- GIMENES, V. M. *Micoses superficiais*. In: ALMEIDA, S. R. *Micologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 42-50, 2008.
- 6- GIRALDI, S.; MARINONI, L.P.; BERTOINA, J.; ABBAGE, K. T.; OLIVEIRA, V. C. *Tinea nigra*: relato de seis casos no Estado do Paraná. *An Bras Dermatol*, 78(5): 593-600, set./out. 2003.
- 7- KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. *Medical Mycology*. Philadelphia: Lea & Febiger, p. 191-197, 1992.
- 8- MATTÊDE, M. G. S.; COELHO, C. C.; PALHANO JR., L. *Tinea nigra* palmar – Relato de quatro casos no estado do Espírito Santos. *An Bras Dermatol*, 63(4):379-80, 1988.
- 9- MINAMI, P. S. *Micologia: métodos laboratoriais de diagnóstico de micoses*. Barueri, SP: Manole, p. 13-14, 2003.
- 10- MOREIRA, V. M. S.; SANTOS, V. L. C.; CARNEIRO, S. C. S.; ASSIS, C.; CARVALHO, M. M.; OLIVEIRA, J. V. C. *Ceratofitose negra*. *An Bras Dermatol* 68(5):284-5, 1993
- 11- PURIM, K. S. M.; TELLES F°, F. Q.; SERAFINI, S. Z. *Feohifomicose superficial (tinea nigra)*: relato de dois casos no Paraná. *An Bras Dermatol*, 65(4): 178-180, 1990.
- 12- SIDRIM, J. J. C. *Micologia Médica à luz dos autores contemporâneos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 2004.
- 13- VIDOTTO, V. *Manual de Micologia Médica*. Ribeirão Preto, SP: Tecmedd, p. 47-48, 2004.
- 14- ZAITZ C. *Micoses superficiais propriamente ditas*. In: ZAITZ, C. *et al*. *Compêndio de Micologia Médica*. Rio de Janeiro: Ed. Médica e Científica Ltda, p. 77-79, 1998.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Barbara Catarina de Antoni Zoppas
Laboratório de Parasitologia e Micologia
Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130
CEP: 95020-320 Caxias do Sul, RS
Telefone/Fax: (54) 3218 2100 – Ramal 2644

BSTEC

Soluções em Biossegurança

A segurança biológica que você busca, aliada à qualidade que você merece!
Toda a experiência em produzir equipamentos de biossegurança para farmácias de manipulação faz da BSTec um empresa inovadora na área de Análises Clínicas. São soluções inteligentes e econômicas que irão trazer tranquilidade durante seus processos laboratoriais.



Cabines de Segurança Biológica
Classe I, Classe II, Fluxo Laminar e
Lavatório Portátil



Tire suas dúvidas.
Solicite um orçamento!
www.bstec.com.br
comercial@bstec.com.br
54 3286-5788

Nossos projetos tecnológicos tem o apoio financeiro de:



BS Pratico

Micoses superficiais em idosos residentes em entidade beneficente na Região Norte do estado do Rio Grande do Sul*

Superficial Mycosis in elderly people living in beneficent entity in the north of Rio Grande do Sul

Ananda Polo¹, Neiva Aparecida Grazziotin²

RESUMO - As micoses superficiais são definidas como infecções que afetam as camadas superficiais da pele, assim como pêlos e unhas. O objetivo do presente estudo foi verificar a prevalência de micoses superficiais em idosos residentes em entidade beneficente localizada na região Norte do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, em estudo retrospectivo, referente ao período de março de 2002 a novembro de 2007. Foram analisadas amostras de 124 idosos com suspeita clínica de micoses superficiais, as quais 28,2% (35/124) foram positivas. Dermatofitose foi a micose mais freqüente, presente em 73,6% das amostras positivas e candidíase, em 26,4%. Em relação ao sexo dos pacientes, 57,1% (20/35) pertenciam ao sexo feminino. As espécies de dermatófitos isoladas através da cultura foram *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes*. Quanto ao gênero *Candida*, a espécie prevalente foi a *Candida albicans*. Estudos abordando a etiologia e epidemiologia das micoses superficiais são importantes, pois auxiliam o controle e prevenção destas infecções.

Palavras-chave: micose, idosos, dermatófitos, *candida*.

SUMMARY - Superficial mycosis are defined as infections which affect superficial layers of skin, hair and nails. The aim of this paper was to verify prevalence of superficial mycosis in elderly people living in beneficent entity in the North of Rio Grande do Sul, Brazil, in a retrospective study, from March 2002 to November 2007. Samples of 124 elderly people with clinic suspect of superficial mycosis diagnosis were analyzed, being 28.2% (35/124) positive. Dermatophytosis was the most common mycosis, present in 73.6% of the positive samples and candidiasis in 26.4%. 57.1% (20/35) of the patients were females. Species of dermatophytes, isolated by culture were *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. In *Candidiasis*, *Candida albicans* was the prevalent specie. Studies of etiology and epidemiology of superficial mycosis are important because they help to control and prevent infections.

Keywords: Mycosis, elderly people, dermatophytes, *candida*.

INTRODUÇÃO

Os fungos podem apresentar-se como patogênicos para os seres humanos e, dependendo do tecido ou do órgão afetado, as micoses classificam-se em superficiais, subcutâneas e sistêmicas³⁶.

As micoses superficiais são definidas como infecções que afetam as camadas superficiais da pele, assim como pêlos e unhas¹⁷; são causadas principalmente por dermatófitos e leveduras³³. Estudos epidemiológicos indicam que estas infecções estão entre as doenças humanas mais comuns, interferindo na execução das tarefas diárias e nas práticas desportivas realizadas pelos pacientes. Estima-se que constituem o terceiro distúrbio cutâneo mais encontrado em crianças menores de 12 anos de idade e o segundo mais comum na população com maior idade, variando de acordo com sexo, idade, grupo étnico e hábitos culturais e sociais dos indivíduos²⁶.

O estudo das micoses superficiais tem grande importância na prática médica pelo comprometimento

que estas causam à população, por simularem outras patologias, como aquelas que afetam áreas expostas do corpo como a pele, sendo necessário a análise laboratorial para seu diagnóstico definitivo⁸. Quadros rotineiros e esperados de micoses têm evoluído para situações clínicas complexas e, às vezes, de alto risco¹⁴.

O diagnóstico laboratorial das micoses superficiais é realizado por meio de exame microscópico de raspados das áreas afetadas e o cultivo em meios de cultura seletivos para tal agente³⁵.

As dermatofitoses também chamadas *tineas* ou *tinhas* são causadas por dermatófitos, ou seja, por fungos que secretam queratinases, enzimas que degradam a queratina encontrada na pele, no pêlo e nas unhas dos indivíduos³⁵. Estes fungos pertencem a três gêneros: *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Trichophyton*^{16,31}. Têm distribuição universal e são classificados como geofílicos, zoofílicos ou antropofílicos, dependendo do seu habitat natural⁷. Os dermatófitos pertencentes ao grupo antropofílico podem causar infecções crônicas, tendo cura difícil; ao contrário, os dermatófitos zoofílicos e geofílicos provocam lesões mais inflamatórias, as

Recebido em 11/09/2008

Aprovado em 02/09/2010

¹Graduanda do Curso de Farmácia Bioquímica Clínica da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Campus de Erechim.

²Mestre em Ciências Biológicas pela UNICAMP, Farmacêutica Bioquímica, Professora do Curso de Farmácia da URI - Campus de Erechim.

*Trabalho desenvolvido na Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Campus de Erechim/RS.

quais, na maioria das vezes, cicatrizam de forma espontânea^{22,25}.

As infecções fúngicas são comuns em países tropicais e subtropicais, como é o caso do Brasil. Têm grande importância epidemiológica e terapêutica, tornando-se um problema de saúde pública que reflete o nível de educação sanitária da população^{3,10}.

As dermatofitoses espalham-se através de arthroconídios que são propágulos que possuem paredes espessas formadas pelas hifas dos dermatófitos, sendo liberadas provavelmente em escamas de pele, lâminas ungueais e fios de cabelo, podendo sobreviver por alguns meses no ambiente²³. A transmissão pode ocorrer entre indivíduos, por animais, pelo contato com o solo ou materiais contaminados como pisos de banheiros, colchões de judô, toalhas de banho, entre outros¹³. De acordo com Pelczar *et al.*²⁸, a umidade da pele é um fator de risco à infecção por dermatófitos.

O gênero *Candida*, componente da microbiota normal humana, também pode causar infecções fúngicas²⁷. A candidíase pode originar-se de uma fonte endógena ou exógena. Devido ao fato da *Candida* encontrar-se presente em pequeno número na pele íntegra saudável, pode ser transmitida pelo contato de indivíduos sadios com o paciente¹³ ou invadir a pele danificada e os locais de dobras da pele os quais, freqüentemente, ficam úmidos e macerados²³.

As infecções relacionadas à candidíase iniciam-se, provavelmente, por mudanças na defesa do hospedeiro, alterando o equilíbrio deste com o parasito. Esta micose afeta pele e mucosas, provocando alterações na hidratação, no pH e nas concentrações de nutrientes destas regiões. Pessoas com atividades ocupacionais que submetem as mãos à umidade estão mais predispostas a este tipo de infecção³². Assim, acredita-se que quando ocorrem alterações no sistema de defesa do hospedeiro, como prematuridade, envelhecimento, doenças degenerativas, imunodeficiências congênitas ou adquiridas e a imunodepressão, estes microrganismos tornam-se patogênicos, causando infecção ao organismo humano⁹.

O presente trabalho teve como objetivo verificar a prevalência de micoses superficiais em idosos residentes em entidade beneficente localizada na região Norte do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, além de comparar os resultados obtidos com estudos semelhantes disponíveis na literatura.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo, onde foram analisados os resultados dos exames micológicos de pele e unha, realizados em idosos residentes em entidade beneficente situada na Região Norte do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, referente ao período de março de 2002 a novembro de 2007.

A amostra do estudo foi composta por 124 pacientes idosos com suspeita de apresentarem micoses superficiais. As amostras biológicas foram obtidas por meio de raspagem das regiões afetadas (pele e unha) após antissepsia com

álcool 70%. O exame micológico direto foi realizado com hidróxido de potássio a 20%. As amostras foram cultivadas em Sabouraud Dextrose Agar e em Agar Seletivo para Fungos com Cloranfenicol e Cicloheximida, incubadas a temperatura de 25 a 30°C por 30 dias.

Os fungos filamentosos foram identificados através do aspecto macroscópico e microscópico das colônias e, quando necessário, perfuração do pêlo *in vitro*. As leveduras foram semeadas em CHROMagar® *Candida*. O teste do tubo germinativo foi utilizado para diferenciar *Candida albicans* de outras espécies do gênero.

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Campus de Erechim.

RESULTADOS

Foram analisados os resultados dos exames micológicos de 124 pacientes idosos, com idade média de 73,17 anos (DP±11,2).

Os exames micológicos revelaram micoses superficiais em 28,2% (35/124) dos indivíduos (Fig. 1).

A Fig. 2 mostra a freqüência das micoses nos indivíduos analisados. Dermatofitose foi a micose verificada na maioria dos pacientes, 65,7% (23/35); candidíase esteve presente em 20% (7/35) dos pacientes e 14,3% (5/35) dos indivíduos analisados apresentaram as duas micoses, dermatofitose e candidíase.

Quanto à distribuição das micoses superficiais de acordo com o sexo, 57,1% (20/35) dos idosos pertenciam ao sexo feminino (Fig. 3).

A Tabela 1 mostra a freqüência de micoses superficiais na população estudada, de acordo com o sítio anatômico acometido. Lesões em dois ou três sítios anatômicos diferentes foram observadas em 14/35 pacientes, totalizando 53 amostras analisadas.

A dermatofitose esteve presente em maior número nas unhas dos pés (30,1%). Ao contrário, as unhas das mãos foram mais acometidas pela candidíase (9,4%). Em relação aos espaços interdigitais dos pés/região plantar, verificou-se predomínio de dermatofitose (39,6%). Também observou-se apenas um caso de dermatofitose na região dorsal e dois casos de candidíase nas nádegas.

Em relação às dermatofitoses, o agente prevalente foi *Trichophyton rubrum*, seguido de *Trichophyton mentagrophytes*. Quanto ao gênero *Candida*, a espécie prevalente foi a *Candida albicans*.

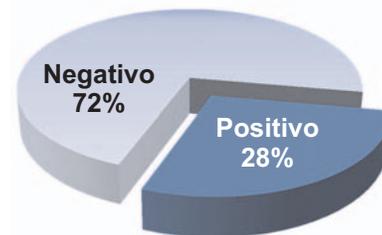


Figura 01: Ocorrência de micoses superficiais nos idosos analisados

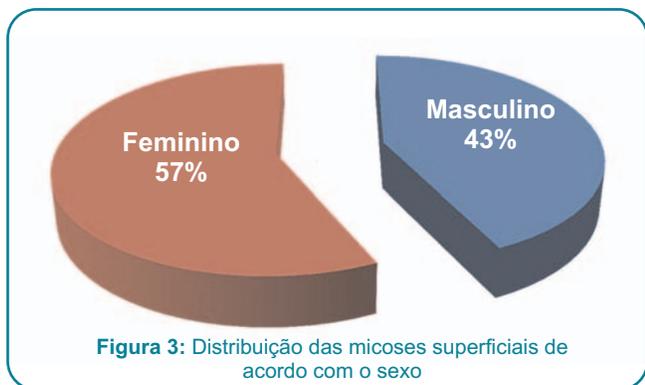
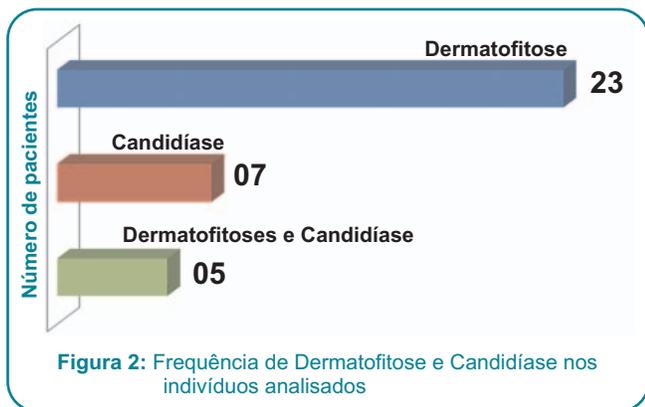


Tabela 1: Frequência de Candidíase e Dermatofitose de acordo com o sítio anatômico acometido nos idosos

Sítio Anatômico	Candidíase		Dermatofitos		Total	
	n	%	n	%	n	%
Unhas dos pés	3	5,7	16	30,1	19	35,8
Espaços interdigitais dos pés/Região plantar	4	7,5	21	39,6	25	47,2
Unhas das mãos	5	9,4	1	1,9	6	11,3
Nádegas	2	3,8	-	-	2	3,8
Região Dorsal	-	-	1	1,9	1	1,9
Total	14	26,4	39	73,6	53	100

DISCUSSÃO

A análise dos exames micológicos, realizada neste estudo, mostrou que 28,2% (35/124) dos idosos apresentaram micoses superficiais em cinco sítios anatômicos distintos.

A prevalência de micoses na população adulta é elevada, observando um aumento desta ocorrência ao passo que a idade avança, afetando, aproximadamente, 40% da população mundial^{3,34}.

Segundo JAFFE¹⁵, 20% da população dos Estados Unidos com idade entre 40 e 60 anos possui onicomicoses, sendo que apenas nas últimas décadas têm sido disponibilizados tratamentos efetivos para esta micose. Estes comprometimentos estão sendo vistos mais do que um simples problema estético, pois ocasionam queda na qualidade de vida dos pacientes, os quais dependem cada vez mais de profissionais e cuidados médicos à sua saúde.

A ocorrência de micoses superficiais em pacientes idosos deve-se a fatores que contribuem para o aparecimento destas infecções, como a taxa reduzida de crescimento da unha e o aumento de trauma quando comparado ao grupo jovem, levando estes indivíduos a adquirirem esta doença e ao aparecimento de sintomas na lâmina ungueal^{21,29}.

No presente estudo, o sítio anatômico mais acometido por dermatofitoses foram as unhas dos pés e os espaços interdigitais dos pés/região plantar. Segundo Araújo *et al.*¹, nos pés ocorre um crescimento mais lento das unhas e, conseqüentemente, uma maior predisposição de acometimento nesta região. Entretanto, quando estas infecções afetam as unhas das mãos têm uma maior atenção médica, sendo diagnosticadas mais precocemente do que quando afetam as unhas dos pés.

As onicomicoses dos pés causam desconforto, juntamente com dor e isto torna difícil a permanência das pessoas em pé, de andar e também de praticar esportes¹. Segundo Guilhermetti *et al.*¹⁴, tem aumentado a procura pelo diagnóstico laboratorial das micoses superficiais, visto que a ocorrência destas é devido, muitas vezes, às mudanças de hábitos em razão da vida moderna, à crescente exigência dos pacientes em resolver seus problemas de saúde e a um elevado número de imunocomprometidos.

Comparando os dados do presente estudo com outros trabalhos, percebe-se uma maior ocorrência de micoses na região dos pés, sendo os dermatófitos os fungos responsáveis por 80-90% das onicomicoses^{18,37}.

A candidíase esteve em maior número nas unhas das mãos, ocorrendo positividade em 9,4% das amostras analisadas, estando estes dados de acordo com um estudo realizado por Souza *et al.*³⁴, que detectaram que as unhas das mãos foram mais acometidas pelo gênero *Candida*, considerado o principal patógeno que afeta esta região. Esta levedura muitas vezes tem sido associada a infecções cutâneas, paroníquias e candidíase mucocutânea, sendo uma infecção secundária.

Ainda, em relação à candidíase, os resultados obtidos neste estudo são compatíveis com outros trabalhos realizados que verificaram o acometimento de leveduras do gênero *Candida* predominantemente nas unhas das mãos, principalmente de donas de casa, onde o excesso de umidade, devido a imersão prolongada em água e detergentes favorece a penetração do fungo, sendo um fator predisponente para o aparecimento desta infecção^{11,12,19}.

Com relação à distribuição das micoses superficiais de acordo com o sexo, constatou-se que o sexo feminino foi mais acometido, representando 57% dos casos.

Nas mulheres é maior o risco de apresentarem

micoses superficiais, devido a estas apresentarem um maior trauma em consequência de atividades manuais, principalmente as domésticas, que expõem as mãos à umidade e também pela utilização de calçados com salto alto que facilitam a agressão^{2,4,8,27}.

Sabe-se que 90% das micoses superficiais têm como agentes causadores os dermatófitos, encontrando o gênero *Trichophyton* na maioria dos casos das amostras analisadas²⁰. No presente estudo, as culturas que foram realizadas demonstraram que as espécies *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* foram os dermatófitos isolados nas culturas analisadas, visto que o *Trichophyton rubrum* foi o agente predominantemente encontrado. O mesmo ocorreu no estudo descrito por Gambale *et al.*¹², onde os autores encontraram dados semelhantes em relação à ocorrência destes agentes nas culturas realizadas.

Comparando estes resultados com outros trabalhos, verifica-se que *T. rubrum* é o mais cosmopolita e o mais implicado na maioria dos quadros clínicos de dermatofitose, devido a apresentar características que tendem a efeitos crônicos e a resistência aos tratamentos utilizados atualmente^{3,10,30,33}. Ainda, o *T. rubrum*, está relacionado com hábitos de higiene e com uso de calçados, tornando-se assim um dos principais causadores das micoses superficiais^{2,6}.

Em relação ao gênero *Candida*, *Candida albicans* foi a espécie predominante no presente estudo, assim como em outros estudos realizados, representando mais de 50% de positividade nas análises^{5,19,24}.

CONCLUSÃO

Com o presente trabalho verificou-se a ocorrência de dermatofitose e/ou candidíase em quase 30% da população idosa estudada. Sabendo-se que estas micoses podem ser transmitidas de um indivíduo para outro, e que estão relacionadas com os hábitos e costumes das pessoas, torna-se importante a prevenção e os cuidados a serem tomados quando diagnosticadas.

Assim, é necessário que os profissionais da saúde preocupem-se com a investigação clínica e o diagnóstico laboratorial, além de proporcionar um tratamento efetivo.

Deste modo, estudos abordando a etiologia e epidemiologia das micoses superficiais devem ser realizados freqüentemente a fim de auxiliar a melhor conduta a ser tomada, evitando sua transmissão.

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Campus de Erechim.

REFERÊNCIAS

1-AQUINO, V. R.; CONSTANTE, C. C.; BAKOS, L. Freqüência de dermatofitoses em exames micológicos em Hospital Geral de Porto Alegre, Brasil. Anais Brasileiros de Dermatologia, 82 (3): 239-244, 2007.

2-ARAÚJO, A. J. G. de; BASTOS, O. M. P.; SOUZA, M. A. J.; OLIVEIRA, J. C. de. Ocorrência de onicomicose em pacientes atendidos em consultórios dermatológicos a cidade do Rio de Janeiro, Brasil. Anais Brasileiros de Dermatologia, 78 (3): 299-308, 2003.

3-ARENAS, J. ESMENJAUD, J. R. Onychomycosis in childhood: a current perspective with

emphasis on the review of treatment. Anais Brasileiros de Dermatologia, 79 (2): 225-232, 2004.

4-BRILHANTE, R. S. N.; PAIXÃO, G. C.; SALVINO, L. K.; DIÓGENES, M. J. N.; BANDEIRA, S. P.; ROCHA, M. F. G.; SANTOS, J. B. F. dos; SIDRIM, J. J. C. Epidemiologia e ecologia das dermatofitoses na cidade de Fortaleza: o *Trichophyton tonsurans* como importante patógeno emergente da *Tinea capitis*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 33 (5): 417-425, 2003.

5-BRITO, A. Patologia ungueal - Incidência de onicomicoses no Pará entre 1980 e 1990. Anais Brasileiros de Dermatologia, 67 (4): 182-183, 1992.

6-CESTARI, T. F.; ABDALLA, C.; ASSIS, T. L. Fisiopatogenia das dermatofitoses. Anais Brasileiros de Dermatologia, 65 (6): 310-316, 1990.

7-CHIMELLI, P. A. V.; SOFIATTI, A. de A.; NUNES, R. S.; MARTINS, J. E. da C. Dermatophyte agents in the city of São Paulo, from 1992 to 2002. Revista Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 45 (5): 259-263, 2003.

8-COELHO, M. P. P.; MENDES, B. G.; SOPRANA, H. Z.; SANTOS, L. F. V.; NAPPI, B. P.; SANTOS, J. I. dos. Micoses observadas em pacientes atendidos no Hospital Universitário, Florianópolis, Santa Catarina. Revista Brasileira de Análises Clínicas, 37 (1): 27-30, 2005.

9-COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 36 (5): 599-607, 2003.

10-COSTA, T. R.; COSTA, M. R.; SILVA, M. V. da; RODRIGUES, A. B.; FERNANDES, O. de F. L.; SOARES, A. J.; SILVA, M. do R. R. Etiologia e epidemiologia das dermatofitoses em Goiânia, GO, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 32 (4): 19-22, 1999.

11-CROCCO, E. I.; MIMICA, L. M. J.; MURAMATU, L. H.; GARCIA, C.; SOUZA, V. M.; RUIZ, L. R. B.; ZAITZ, C. Identificação de espécies de *Candida* e susceptibilidade antifúngica *in vitro*: estudo de 100 pacientes com candidíases superficiais. Anais Brasileiros de Dermatologia, 79 (6): 689-697, 2004.

12-GAMBALE, W. Incidência de micoses superficiais em São Paulo, Capital. Anais Brasileiros de Dermatologia, 62 (4): 193-194, 1987.

13-GOMPERTZ, O. Características gerais das micoses. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. Microbiologia. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2004, p. 461-470.

14-GUILHERMETTI, E.; KIOSHIMA, E. S.; SHINOBU, C.; SILVA, S. C.; MOTA, V. A.; SVIDZINSKI, T. I. E. Micologia Médica: uma área das Análises Clínicas que está em expansão. Revista Brasileira de Análises Clínicas, 36 (1): 51-53, 2004.

15-JAFFE, R. Onychomycosis Recognition, Diagnosis and Management. Clinical Review, 7 (6): 587-592, 1998.

16-KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN, W. C. Diagnóstico Microbiológico, Texto e Atlas colorido. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2001, 1432 p.

17-LACAZ, C. da S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; VACCARI, E. M. H.; MELO, N. T. Tratado de Micologia Médica Lacaz. São Paulo: Sarvier, 2002, 1104 p.

18-LIMA, K. de M.; RÊGO, R. S. de M.; MONTENEGRO, F. Diagnósticos Clínicos e Laboratoriais das Onicomicoses. Revista NewsLab, 83: 184-196, 2007.

19-LIMA, K. de M.; DELGADO, M.; REGO, R. S. de M.; DE-CASTRO, C. M. M. B. *Candida albicans* e *Candida tropicalis* isoladas de onicomicose em paciente HIV-positivo: Co-resistência *in vitro* aos azólicos. Revista de Patologia Tropical, 37 (1): 57-64, 2008.

20-LOO, D. S. Onychomycosis in the Elderly: Drug Treatment Options. Drugs & Aging, 24 (4): 293-302, 2007.

21-MAHMOUDABADI, A. Z.; ZARRIN, M. Onychomycosis with *Aspergillus flavus*: a case report from Iran. Pakistan Journal of Medical Sciences, 21 (4): 497-498, 2005.

22-MEZZARI, A. Frequency of dermatophytes in the metropolitan area of Porto Alegre, RS, Brasil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 2: 89-92, 1998.

23-MIMS, C.; PLAYFAIR, J.; ROITT, I.; WAKELIN, D.; WILLIAMS, R. Microbiologia Médica. 2. ed. São Paulo: Manole, 1999, 584 p.

24-MIRANDA, K. C.; ARAÚJO, C. R. de; KHRAIS, C. H. A.; LEMOS, J. de A.; COSTA, C. R.; SOUZA, L. K. H.; PASSOS, X. S.; FERNANDES, O. de F. L.; SILVA, M. do R. R. Identificação de leveduras do gênero *Candida* nas unhas e em descamação de pele em Goiânia (GO), durante o ano de 2003. Revista de Patologia Tropical, 34 (2): 123-128, 2005.

25-MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. Microbiologia Médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1992, 513 p.

26-MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. Microbiologia Médica. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2000, 604 p.

27-OLIVEIRA, J. A. A. de; BARROS, J. de A.; CORTEZ, A. C. A.; OLIVEIRA, J. S. R. L. de. Micoses superficiais na cidade de Manaus, AM, entre março e novembro/2003. Anais Brasileiros de Dermatologia, 81 (3): 1-3, 2006.

28-PELCCZAR, J. M.; CHAN, C. S.; KRIEG, N. R. Microbiologia: conceitos e aplicações. 2. ed. São Paulo: Makron Books do Brasil, 1997, 517 p.

29-PERON, M. L. D. F.; TEIXEIRA, J. J. V.; SVIDZINSKI, T. I. E. Epidemiologia e etiologia das dermatomicoses superficiais e cutâneas na Região de Paranavaí-Paraná, Brasil. Revista Brasileira de Análises Clínicas, 37 (2): 77-81, 2005.

30-REZENDE, C.; BORSARI, G. P.; SILVA, A. C. F. da; CAVALCANTI, F. R. Estudo epidemiológico das dermatofitoses em instituições públicas da cidade de Barretos, São Paulo, Brasil. Revista Brasileira de Análises Clínicas, 40 (1): 13-16, 2008.

31-SANTOS, J. I. S. dos; NEGRÍ, C. M.; WAGNER, D. C.; PHILIPPI, R.; NAPPI, B. P.; COELHO, M. P. Some aspects of dermatophytoses seen at University Hospital in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 39 (3): 137-140, 1997.

32-SIDRIM, J. J.; ROCHA, M. F. G. Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, 388 p.

33-SIQUEIRA, E. R.; FERREIRA, J. C.; MAFFEI, C. M. L.; CANDIDO, R. C. Ocorrência de dermatófitos em amostras de unhas, pés e mãos coletadas de estudantes universitários.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Neiva Aparecida Grazziotin
Rua: Carlos Gomes, 649, Apt. 602
Passo Fundo – RS
CEP: 99.070-060
Email: neivagra@uri.com.br

38°

Congresso Brasileiro de Análises Clínicas



11°

Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

26 a 29 de junho de 2011
Expo Unimed - Curitiba/PR

Realização
SBAC
Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

Patrocinadores masters



Organização



Qualidade Eventos
Eventos Corporativos Especiais

35 conferências

06 cursos teórico-práticos

17 mesas redondas;

e mais...

4 Sessões Interativas interdisciplinares; e

2 Seminários de Lâminas

30 workshops;

E uma agenda social imperdível!!!

**26/06 - Solenidade de abertura com
coquetel de confraternização e show cultural**

27/06 - Festa Hot Monday (Diversão em boate)

28/06 - Terça cultural

29/06 - Jantar de confraternização

Uma programação científica de altíssimo nível!

Você não pode perder!

Acesse agora mesmo: www.cbac.org.br e inscreva-se!

Avaliação do diagnóstico citológico cérvico-vaginal do Sistema Único de Saúde em Turvo-SC e Porto Alegre-RS.

Avaliation of cytologic diagnostics cervical-vaginal in the Sistema Único de Saúde in Turvo-SC and Porto Alegre-RS

Juliana Maragno Emerich¹; Andréia Buffon²

RESUMO - O exame citopatológico é de grande importância para o diagnóstico precoce das lesões pré-malignas e do câncer do colo uterino. A correta obtenção do material bem como a interpretação exata do citologista é de extrema importância para obtenção de um diagnóstico conclusivo. O propósito deste trabalho foi realizar um levantamento estatístico e análise comparativa de resultados de exames citológicos do Ministério da Saúde (SUS) durante o primeiro semestre de 2005 entre Turvo-SC e Porto Alegre-RS. Foram utilizados exames citopatológicos do colo do útero realizados pelo Programa Saúde da Família – PSF do Ministério da Saúde da Secretaria Municipal de Saúde de Turvo e do Laboratório Marques Pereira de Porto Alegre, num total de 567 laudos em cada laboratório. Os laudos foram obtidos aleatoriamente, foi realizada análise quantitativa e estatística descritiva dos dados. Em Porto Alegre houve predomínio de resultados dentro dos limites da normalidade com 49,2%, em Turvo predominaram as alterações celulares benignas com 66,84%. Quanto às lesões intra-epiteliais em Turvo foram 0,6% do total de exames, incluindo 1 de células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US), 1 lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LSIL/HPV) e 1 lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL). Em Porto Alegre 2,7% de resultados com lesões intra-epiteliais, sendo 8 ASC-US, 4 LSIL, 1 HSIL e 2 com células glandulares atípicas de significado indeterminado. Em relação à qualidade das amostras, em Turvo 71,6% foram satisfatórias e 76,2% em Porto Alegre. Amostras satisfatórias, porém limitadas somam 27,9% em Turvo e 22,6% em Porto Alegre. As amostras insatisfatórias em Turvo somaram 0,5% e em Porto Alegre 1,2%. Os microorganismos mais frequentes nas duas cidades foram *Gardnerella vaginalis*, *Candida* sp. e *Trichomonas vaginalis*, embora tenha prevalecido *Candida* sp., com 6,34% em Turvo e *Gardnerella vaginalis* com 16,4% em Porto Alegre.

Palavras-chave: câncer do colo uterino, amostras satisfatórias, lesões intra-epiteliais.

SUMMARY - The exam citological is of great importance for the precocious diagnosis of the ante-malign lesions and of the cancer of the glue uterine. The correct obtaining of the material as well as the exact interpretation of the citological, they are of extreme importance for obtaining of a conclusive diagnosis. The purpose of this work went accomplish a statistical rising and comparative analysis of results of cytological exams of the Ministry of the Health (SUS) during the first semester of 2005 between Turvo-SC and Porto Alegre-RS. Exams citological was used of the glue of the uterus accomplished by the Program Health of the Family–PHF of the Ministry of the Health of the Municipal Clerkship of Health of Turvo and of the Laboratory Marques Pereira of Porto Alegre, in a total of 567 certificate in each laboratory. The certificate was obtained at random, they were accomplished descriptive quantitative and statistical analysis of the data. In Porto Alegre there was prevalence of results inside of the limits of the normality with 49,2%, in Turvo the benign cellular alterations prevailed with 40,4%. With relationship to the lesions inter-epithelial in Turvo they were 0,6% of the total of exams, including 1 of atypical scaly cells of uncertain meaning (ASC-US), 1 lesion inter-epithelial scaly of low degree (LSIL/HPV) and 1 lesion inter-epithelial scaly of high degree (HSIL). In Porto Alegre 2,7% of results with lesions inter-epithelial, being 8 ASC-US, 4 LSIL, 1 HSIL and 2 with atypical glandular cells of uncertain meaning. In relation to the quality of the samples, in Turvo 71,6% were satisfactory and 76,2% in Porto Alegre. Satisfactory, even so limited samples add 27,9% in Turvo and 22,6% in Porto Alegre. The unsatisfactory samples in Turvo added 0,5% and in Porto Alegre 1,2%. The most frequent microorganisms in the two cities were *Gardnerella vaginalis*, *Candida* sp. and *Trichomonas vaginalis*, although *Candida* sp has prevailed, with 6,34% in Turvo and *Gardnerella vaginalis* with 16,4% in Porto Alegre.

Keywords: cancer of the glue uterine, satisfactory samples, lesions inter-epithelial

INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero é o segundo mais comum entre mulheres no mundo, sendo responsável anualmente por cerca de 471 mil casos novos e pelo óbito de aproximadamente 230 mil mulheres por ano. A incidência por câncer do colo uterino torna-se evidente na faixa etária de 20 a 29 anos e o risco aumenta rapidamente até atingir seu pico geralmente na faixa

etária de 45 a 49 anos. Quase 80% dos novos casos ocorrem em países em desenvolvimento, onde em algumas regiões é o câncer mais comum entre as mulheres. No Brasil, estima-se que o câncer do colo uterino seja a terceira neoplasia maligna mais comum entre as mulheres, sendo superado pelo câncer de pele (não-melanoma) e pelo câncer de mama, e que seja a quarta causa de morte por câncer em mulheres. O número de novos casos de câncer do colo uterino, esperado para o Brasil em 2006 é de 19.260, com um risco estimado de 20 casos a cada 100 mil mulheres²⁰.

Recebido em 27/02/2008

Aprovado em 13/10/2010

¹Farmacêutica-Bioquímica, Aluna do Curso de Especialização em Citologia Clínica pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, SBAC-RS

²Docente da Faculdade de Farmácia, Departamento de Análises, UFRGS.

O principal agente causal do câncer do colo uterino é o papiloma vírus humano (HPV), transmitido sexualmente, sendo mais prevalente em mulheres com iniciação sexual precoce e com múltiplos parceiros. Outros fatores são o tabagismo e o uso de anticoncepcionais orais²⁰. As lesões oriundas da infecção pelo HPV provocam geralmente alterações morfológicas características detectáveis em citologia de raspados cérvico-vaginais e biópsias¹⁵. Em consideração ao HPV, atualmente, aconselha-se o início precoce da prevenção do câncer cérvico uterino, aos 18 anos ou a partir do início da atividade sexual, independente da idade²⁶. No Brasil, a partir de 1998, a programação de ações de controle de câncer cérvico uterino do Ministério da Saúde teve sua população alvo ampliada, o que anteriormente era de 35 a 49 anos, passou para 25 a 59 anos¹⁹.

Segundo LONGATTO FILHO *et al.* (2003)¹⁴, a zona de transformação da cérvix ou junção escamo colunar (JEC), na qual as células colunares podem sofrer metaplasia, está mais exposta durante a adolescência do que na fase adulta. Esta área é mais susceptível à infecção por agentes patogênicos de transmissão sexual, inclusive HPV, sendo a área a partir da qual origina-se a maior parte das lesões precursoras de carcinomas cervicais.

O exame de *Papanicolaou* constitui-se em um meio, dentre todos os procedimentos clínicos ou subsidiários, capaz de diagnosticar uma neoplasia maligna ainda em fase inicial¹⁷. O exame citopatológico periódico para prevenção do câncer do colo uterino tem sido a melhor estratégia de saúde pública para a detecção de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas³¹. É estimado que uma redução próxima de 80% da mortalidade por esse câncer e, também, de lesões precursoras com alto potencial de malignidade ou carcinoma possa ser alcançada através do rastreamento de mulheres na faixa etária de 25 a 65 anos com o teste de *Papanicolaou*. O exame preventivo do câncer do colo uterino consiste na coleta de material citológico do colo do útero, sendo coletado uma amostra da parte externa (ectocérvice) e outra da parte interna (endocérvice)²⁰.

O instrumento mais conhecido para efetuar um esfregaço cervical é a espátula concebida por Ayre, citologista canadense, em 1947. Sua forma lhe permite abraçar a superfície da ectocérvice e penetrar na endocérvice⁹. Porém, vários trabalhos demonstram que a associação da escova *cytobrush* com a espátula de Ayre melhora o desempenho no diagnóstico citológico da neoplasia do colo uterino^{2,4,18}.

Segundo ELIAS *et al.* (1987)⁶, ocorre um aumento significativo de alterações moderadamente ou severamente atípicas nas amostras contendo células endocervicais quando comparadas com amostras sem células endocervicais. Num estudo de MCCORD *et al.* (1992)¹⁸, o diagnóstico das lesões intra-epiteliais de alto grau NIC II e NIC III, foram significativamente maiores para as técnicas com amostras do canal cervical. Coerente com essas evidências a Organização Mundial da Saúde propõe a utilização do percentual de esfregaços com células endocervicais como um dos indicadores para avaliação da qualidade do esfregaço colpocitopatológico³³. A presença de células da JEC tem sido considerada fator essencial à confiabilidade do método de

Papanicolaou, pois a presença de um componente endocervical garante uma amostra adequada desta região, aumentando a probabilidade da detecção das anormalidades cervicais^{1,13}.

Atualmente para classificar as lesões pré-cancerosas, pode-se utilizar uma associação entre o Sistema Bethesda 2001²⁸ e a classificação de RICHARDT (1967)²³ que relaciona lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LSIL) com neoplasia intra-epitelial cervical (NIC I) e infecção por HPV, e lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL) com NIC II e NIC III. A terminologia de Bethesda para descrever o epitélio glandular utiliza células glandulares atípicas de significado indeterminado sem outras especificações, células glandulares atípicas de significado indeterminado possivelmente neoplásicas e adenocarcinoma²⁹.

O principal propósito da citologia cérvico vaginal é a detecção dos precursores do câncer cervical, porém o achado de condições infecciosas e reativas pode ter uma contribuição para a saúde da paciente. Uma vez que os agentes infecciosos, entre eles a vaginose bacteriana, a candidíase e a tricomoníase, responsáveis por cerca de 90% dos casos de origem infecciosa, são uma das principais causas que levam a mulher ao ginecologista^{12,8}.

De acordo com o senso do IBGE, na cidade de Turvo, a população estimada em 2005 foi de 11.170 habitantes, sendo 4.548 mulheres acima dos 10 anos de idade. A cidade de Turvo possui 234 Km² em área de unidade territorial e consta com oito estabelecimentos de saúde pública¹¹.

Porto Alegre capital do estado do Rio Grande do Sul possui de acordo com o senso de 2005, 1.428.696 habitantes, sendo destes 623.542 mulheres acima dos 10 anos. A área territorial de Porto Alegre é de 497 Km², com 127 estabelecimentos de saúde pública¹¹.

O objetivo desse trabalho foi realizar um levantamento estatístico e análise comparativa dos resultados dos exames citológicos do Ministério da Saúde durante o primeiro semestre de 2005 entre Turvo-SC e Porto Alegre-RS.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizadas avaliações comparativas entre laudos de 567 mulheres acima de 11 anos de idade atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS) – Programa “Viva Mulher” (SISCOLO), oriundos da Secretaria Municipal de Saúde de Turvo-SC e do Laboratório Marques Pereira - Porto Alegre-RS no período de Janeiro a Junho de 2005.

A coloração utilizada pelos laboratórios para a leitura das lâminas, tanto para a citologia quanto para a microbiologia, foi a coloração de *Papanicolaou*. Os resultados foram classificados segundo o Sistema Bethesda, 2001²⁸. Os critérios utilizados para classificar os resultados foram: negativo para lesão intra-epitelial escamosa ou malignidade, quando tanto células epiteliais escamosas quanto glandulares endocervicais apresentaram características morfológicas normais; ASC-US (células escamosas atípicas de significado indeterminado), quando as anormalidades celulares foram mais acentuadas que as encontradas para alterações inflamatórias ou reativas, mas com critérios insuficientes para concluir um diagnóstico de lesão intra-epitelial escamosa; LSIL/HPV (lesão intra-epitelial

escamosa de baixo grau/HPV), quando as células epiteliais escamosas maduras apresentaram alterações características tais como disqueratose, binucleação ou multinucleação, presença de coilocitos e citomegalia; HSIL (lesão intra-epitelial escamosa de alto grau) quando as células epiteliais escamosas se apresentavam imaturas acompanhadas de aumento da relação núcleo/citoplasma, hiperchromatismo nuclear com cromatina granulosa, contorno irregular da membrana nuclear, células dispostas em agregados do tipo sincício ou isoladas e grupos celulares coesos em fileira; carcinoma de células escamosas quando as células apresentavam todos os critérios de HSIL, mas, além disso, presença de macronúcleos proeminentes, cromatina grosseiramente irregular, com aspecto de “tinta Nankin” e diátese tumoral.

Células Glandulares Atípicas de significado indeterminado quando as células do tipo endocervicais apresentam atipia nuclear que ultrapassa as alterações reativas ou reparadoras óbvias, mas que não apresentam características inequívocas de adenocarcinoma endocervical. Adenocarcinoma endocervical *in situ*, a lesão

endocervical glandular é de alto grau e se caracteriza por aumento nuclear, hiperchromasia, estratificação e atividade mitótica, mas sem invasão. Adenocarcinoma endocervical, os critérios citológicos se superpõem aos delineados ao adenocarcinoma endocervical *in situ*, mas podem mostrar características de invasão²⁹.

RESULTADOS

Na análise comparativa entre os 567 laudos de exames citopatológicos de Turvo e Porto Alegre foi constatado 32,09% (182 casos) dentro dos limites da normalidade e 66,84% (379 casos) alterações celulares benignas em Turvo. Laudos dentro dos limites da normalidade somaram 49,2% (279 casos) e 46,91% (266 casos) alterações celulares benignas em Porto Alegre (Tabelas 1 e 2). Entre as alterações celulares benignas, metaplasia foi o item onde obtivemos maior variação entre os dois municípios, com 15,5 % (88 casos) em Turvo e 2,11% (12 casos) em Porto Alegre (dados não mostrados).

Quanto às lesões intra-epiteliais obtivemos 0,2% (1 caso) de ASC-US, 0,2% (1 caso) de LSIL/HPV e 0,2% (1 caso)

Tabela 1 – Distribuição dos resultados dos exames citológicos normais e com alterações benignas por faixa etária: Turvo

Resultados	Até 25 anos	26-38 anos	39-50 anos	51-70 anos	Acima 70 anos	Total	%
Dentro limites da normalidade	36	76	55	13	2	182	32,09
Alterações celulares benignas*	70	117	119	66	7	379	66,84
Lâmina danificada ou ausente	-	2	-	1	-	3	0,52

(*). Alterações celulares benignas incluem: Reparo, Metaplasia, Atrofia, Inflamação, Radiação, alterações celulares compatíveis com o uso do DIU (Dispositivo Intra Uterino)

Tabela 2 – Distribuição dos resultados dos exames citológicos normais e com alterações benignas por faixa etária: Porto Alegre

Resultados	Até 25 anos	26-38 anos	39-50 anos	51-70 anos	Acima 70 anos	Total	%
Dentro limites da normalidade	62	110	74	33	-	279	49,20
Alterações celulares benignas*	51	63	71	67	14	266	46,91
Lâmina danificada ou ausente	2	4	-	1	-	7	1,24

(*). Alterações celulares benignas incluem: Reparo, Metaplasia, Atrofia, Inflamação, Radiação, alterações celulares compatíveis com o uso do DIU (Dispositivo Intra Uterino)

Tabela 3 – Distribuição dos resultados dos exames citológicos por faixa etária: Turvo – Lesões intra-epiteliais

Resultados	Até 25 anos	26-38 anos	39-50 anos	51-70 anos	Acima 70 anos	Total	%
ASC-US	1	-	-	-	-	1	0,2
LSIL/HPV	-	-	1	-	-	1	0,2
HSIL	-	1	-	-	-	1	0,2
Células Glandulares Atípicas de Significado Indeterminado	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL						3	0,6

ASC-US – células escamosas atípicas de significado indeterminado;
LSIL/HPV – lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau;
HSIL – lesão intra-epitelial escamosa de alto grau.

Tabela 4 – Distribuição dos resultados dos exames citológicos por faixa etária: Porto Alegre – Lesões intra-epiteliais

Resultados	Até 25 anos	26-38 anos	39-50 anos	51-70 anos	Acima 70 anos	Total	%	
ASC-US	4	1	2	1	-	8	1,4	ASC-US – células escamosas atípicas de significado indeterminado;
LSIL/HPV	2	2	-	-	-	4	0,7	LSIL/HPV – lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau;
HSIL	1	-	-	-	-	1	0,2	HSIL – lesão intra-epitelial escamosa de alto grau.
Células Glandulares Atípicas de Significado Indeterminado	-	-	1	1	-	2	0,4	
TOTAL						15	2,7	

Tabela 5 – Distribuição dos resultados dos exames citológicos quanto a adequabilidade das amostras em Turvo e Porto Alegre.

Resultado	Turvo		Porto Alegre	
Satisfatória	406	71,6	432	76,2
Satisfatória (limitada por ausência células endocervicais)	153	27,0	115	20,3
Satisfatória com presença de sangue	1	0,2	4	0,7
Satisfatória limitada (esfregaço purulento)	2	0,3	5	0,9
Satisfatória limitada (dessecamento)	1	0,2	1	0,2
Satisfatória limitada ausência dados clínicos	1	0,2	-	-
Satisfatória (áreas espessas)	-	-	3	0,5
Insatisfatórias (áreas espessas)	1	0,2	-	-
Insatisfatória (material escasso ou hemorrágico)	2	0,3	-	-
Insatisfatória (lâmina danificada ou ausente)	-	-	7	1,2
TOTAL	567	100%	567	100%

Tabela 6 – Frequência de *Gardnerella vaginalis*, *Cândida sp.* e *Trichomonas vaginalis*, considerando a faixa etária das pacientes em Turvo e Porto Alegre

Faixa Etária	Turvo			Porto Alegre		
	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Candida sp.</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Candida sp.</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
Até 25 anos	0	10	0	29	2	2
26 a 38 anos	5	15	2	28	1	1
39 a 50 anos	7	10	0	23	9	1
51 a 70 anos	2	1	0	13	4	0
Acima de 70 anos	0	0	0	0	0	0
TOTAL	14	36	2	93	16	4
%	2,46	6,34	0,35	16,40	2,82	0,70

de HSIL em Turvo em diferentes faixas etárias, num total de 0,6% dos resultados. Em Porto Alegre, 1,4% (8 casos) foram ASC-US, 0,7% (4 casos) LSIL/HPV, 0,2 % (1 caso) HSIL e 0,4% (2 casos) células glandulares atípicas de significado indeterminado num total de 2,7% dos resultados, prevalecendo a faixa etária até 25 anos (Tabelas 3 e 4).

Na distribuição dos resultados quanto a adequabilidade das amostras, em Turvo 71,6% (406 casos) foram amostras satisfatórias e 76,2% (432 casos) em Porto Alegre. Nas amostras satisfatórias, mas limitadas por ausência de células endocervicais, 27,0% (153 casos) em

Turvo e 20,3% (115 casos) em Porto Alegre. Turvo obteve 0,5% (3 casos) de amostras insatisfatórias e Porto Alegre 1,2% (7 casos) (Tabela 5).

Quanto à frequência de microorganismos patogênicos, considerando a faixa etária, houve um predomínio de 16,4% (93 casos) de *Gardnerella vaginalis* em Porto Alegre e 6,34% (36 casos) de *Candida sp.* em Turvo (Tabela 6).

DISCUSSÃO

Em nosso trabalho realizamos uma avaliação

comparativa de resultados de exames citopatológicos entre Turvo-SC e Porto Alegre-RS. Comparando a distribuição dos resultados normais e com alterações celulares benignas por faixa etária, observamos que em Porto Alegre “dentro dos Limites da Normalidade” foi o resultado predominante, tendo o maior número de casos na faixa etária de 26 a 38 anos. Em Turvo o resultado predominante foi “alterações celulares benignas”, obtendo o maior número de casos na faixa etária de 39 a 50 anos. Essa diferença pode ter ocorrido devido à interpretação do citopatologista, coleta inadequada, fixação do material, confecção e coloração da lâmina. Conforme dados obtidos na literatura, um estudo encontrou 27,7% de citologias normais e 66,8% inflamatório, semelhante aos dados encontrados em Turvo⁷.

O item em que encontramos maior variação entre os resultados foi “metaplasia” onde 15,5% ocorreram em Turvo e apenas 2,11% em Porto Alegre, predominando na faixa etária de 26 a 38 anos em ambos. (dados não mostrados). Um estudo realizado por ROPELATO *et al.* (2002)²⁴ revelou que em 4.899 exames, 9,7% dos resultados apresentava metaplasia, dado esse que não está de acordo com Porto Alegre, uma vez que lá encontramos um percentual muito pequeno de resultados com metaplasia nos laudos que analisamos.

Neste estudo obtivemos 0,6% de lesões intra-epiteliais em Turvo, sendo ASC-US, LSIL/HPV e HSIL. Em Porto Alegre, encontramos 2,7% dos resultados com ASC-US, LSIL/HPV, HSIL e células glandulares atípicas de significado indeterminado. NETO *et al.* (2001)²¹ encontrou em seu estudo realizado com 2.278 mulheres, apenas 3,3% de lesões intra-epiteliais, índice este, próximo ao de Porto Alegre e do previsto pelo PNCQ (Programa Nacional de Controle de Qualidade) que é de 4,0%.

O diagnóstico de células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US) é encontrado quando as anormalidades presentes são mais acentuadas que aquelas atribuídas às alterações reativas, mas que qualitativa ou quantitativamente são insuficientes para definir um diagnóstico de lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau²⁷. Em nosso estudo obtivemos em Turvo 0,2% de células atípicas de significado indeterminado e Porto Alegre 1,8%, sendo que este está de acordo com dados do trabalho de VAUCHER *et al.* (2006)³², onde foi encontrado 1,47% de ASC-US.

Enquanto em Porto Alegre obtivemos o maior índice de lesões na faixa etária até 25 anos, em Turvo não houve predominância em nenhuma faixa etária. Comparando esses resultados com a literatura, alguns trabalhos demonstram que as lesões, em sua maioria estão presentes em idade superior a 35 anos³. DANI *et al.* (2000)⁵, constatou um pico de HSIL na faixa etária de 35 a 39 anos e de LSIL/HPV entre 20 a 24 anos.

Em nosso estudo, de 567 laudos obtivemos em Turvo 71,60% satisfatórias, 27,86% limitadas e 0,52% insatisfatórias. Em Porto Alegre 76,19% satisfatórias, 22,57% limitadas e 1,24% insatisfatórias. FAGUNDES *et al.* (2001), obteve em 66.212 esfregaços, 4,39% (2.910) de amostras insatisfatórias para análise. Em outro estudo realizado por

NIELSEN *et al.* (1993), a frequência encontrada de amostras insatisfatórias foi menor que 1% do total dos esfregaços, compatível este último com Turvo e Porto Alegre. Com relação à adequabilidade da amostra ressaltamos ainda que em Turvo e Porto Alegre obtivemos 27% e 20,3% respectivamente, de esfregaços com ausência de células endocervicais, sendo esse o principal critério de representatividade para classificarmos uma amostra como satisfatória. Em seu estudo, ZEFERINO *et al.* (2000), encontrou em 4.059 mulheres estudadas, 24,95% de esfregaços que não apresentaram células endocervicais, resultado semelhante ao encontrado em nossos estudos. Segundo FAGUNDES *et al.* (2001)⁷, verifica-se que a fixação imprópria é a maior causa de diagnósticos inadequados, tornando a amostra insatisfatória para análise NIELSEN *et al.* (1993)²², detectou que a causa mais freqüente de amostras insatisfatórias foi a baixa celularidade.

Em seu estudo, FAGUNDES *et al.* (2001)⁷ cita que a qualidade do diagnóstico citológico depende ainda de vários fatores importantes como: anamnese, colheita adequada, preparo do esfregaço, fixação, coloração e leitura criteriosa. Um dos motivos dos poucos casos de lesões e atipias encontradas na cidade de Turvo, pode ser devido à falta de componentes da endocérvice em 27% dos esfregaços, em relação a Porto Alegre que obteve 20,3%. LUZZATO & BOOM (1996)¹⁶ concluem em seu estudo que a quase totalidade das HSIL foram observadas em amostra com células endocervicais, o que demonstra a importância destes componentes para diagnóstico das lesões intra-epiteliais mais graves. Estas mesmas conclusões também foram observadas por ZEFERINO *et al.* (2000)³⁴, em seu estudo, pois as taxas de diagnósticos de HSIL foram significativamente maiores para as técnicas com amostras do canal cervical.

Quanto à faixa etária mais procurada para o exame preventivo do colo do útero, em Turvo e Porto Alegre, constatou-se que a maior parte das mulheres atendidas estava na faixa etária de 26 a 38 anos. No trabalho realizado por THIESEN *et al.* (2001)³⁰, 52,7% das mulheres atendidas estavam na faixa entre 26 a 45 anos. Relaciona-se a este dado o fato da faixa etária de 20 a 40 anos ser a faixa de maior atividade sexual.

Em nosso estudo observamos que os microorganismos que mais predominaram foram *Gardnerella vaginalis*, *Candida* sp. e *Trichomonas vaginalis*. Dados da literatura também demonstram que esses agentes são os mais freqüentes, entretanto, os percentuais são um pouco variáveis. Vários trabalhos da literatura^{10,24,25,30} demonstram um percentual bastante variável de *Gardnerella vaginalis*, o que está de acordo com dados encontrados em nosso estudo, onde as amostras de Turvo apresentaram menor índice de *Gardnerella vaginalis*, registrando apenas 2,46%. Já em Porto Alegre, o índice de *Gardnerella vaginalis* encontrado foi de 16,4%. Cada região apresentou suas diferenças quanto à freqüência dos microorganismos presentes. Acreditamos que está diretamente relacionado com os hábitos de higiene, comportamento e cultura de cada região.

Através deste estudo, pode-se concluir que é tornando eficiente a estrutura do nosso sistema de saúde, através de investimentos na capacitação profissional além da implantação

de infra-estrutura humana o caminho para efetivação dos programas preventivos. Ressaltamos que certamente ações de treinamento de coleta no sentido de melhorar a representatividade dos esfregaços cervicais, apresentarão índices bem menores de falhas e tornarão os exames citopatológicos mais confiáveis.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Secretaria Municipal de Saúde de Turvo – SC e ao Laboratório Marques Pereira de Porto Alegre – RS, por disponibilizarem os resultados para análise.

REFERÊNCIAS

- 1- ANDERSON, G.H.; FLYNN, K.J.; HICKEY, L.A.; LERICH, J.C.; MATISIC, J.P.; SUEN, K.C. A comprehensive internal quality control system for a large cytology laboratory. *Acta cytol*, 31: 895-9, 1987.
- 2- BOON, M.E.; KORDELAAR A.V. JJ, Rie tveld-Schellers PE. Consequences of the introduction of combined spatula and cytobrush sampling for cervical cytology: improvements in smears quality and detection rates. *Acta Cytol* 1986; 30:264-70
- 3- BRITO, N.M.B.; MOREIRA, S.F.S.; FERREIRA, M.A., LOPES, R.V., BASTOS, A.A.C. Aspectos Epidemiológicos das Neoplasias intra-epiteliais cervicais identificadas por colpocitologia oncológica. *Rev. para. Méd.V.14*, p.42-46, 2000.
- 4- BUNTINX F, BROWERS, M. Relation between sampling device and detection of abnormality in cervical smears: a meta-analysis of randomised and quasi-randomised studies. *BMJ*. 1996; 313:1285-90.
- 5- DANI, L.; LACHNO, M.; GRAZZIOTIN, R.Z., RODRIGUEZ, R. Perfil etário das pacientes acometidas por lesões intra-epiteliais escamosas e câncer do colo uterino na região do Planalto Médio-RS. *Rev. AMRIGS. Porto Alegre*. v.44, p.47-49, Jan-Jun, 2000
- 6- ELIAS A.; LINTHORST, G.; BEKKER, B; VOOJIS, P.G. The Significance of Endocervical Cells in the Diagnosis of Cervical Epithelial Charges. *Acta Cytol*, 31:225-9, 1987.
- 7- FAGUNDES, M.C.S.; HARDT, L.L.; SAITO, S.; YAMAMOTO, L.S.U.; LONGATTO FILHO, A., UTAGAWA, M.L. Amostra inadequada em Screening de esfregaços Cêrvico-vaginais: as principais causas: *Rev. Laes & Haes* 22(6): 94, 98, 100, 2001.
- 8- FRIEDRICH, E.G Jr. Vaginitis. *Am J Obstet Gynecol*. 1985; 152:247-51.
- 9- GOMPEL, C.; KOSS, L. Citologia ginecológica e suas bases anatomoclínicas. 1ª ed. São Paulo, Manole, p.31-33, 79-105, 1997.
- 10- GUERREIRO, H.M.N.; BARBOSA, H.S.; FILHO, J.L.C.; TISHCHENKO, L.M. e HAGGE, S. Flora vaginal e correlação com aspectos colológicos. *Rev. Saúde públ.*, S.Paulo, 20:415-20, 1986.
- 11- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). [http://www.ibge.gov.br] Censo 2000 com divisão territorial 2001 [citado em 2006 Setembro 19].
- 12- KENT, H.L. Epidemiology of vaginitis. *Am J Obstet Gynecol*. 1991; 165:1168-76.
- 13- KURMAN, R.J., SOLOMON, P.O. O sistema de Bethesda para o relato de diagnóstico citológico cêrvico vaginal. Tradução por Dalton de Freitas Santoro. Rio de Janeiro: Revinter, 1997.
- 14- LONGATTO FILHO A., ETLINGER, D., GOMES, N.S., CRUZ, S.V., CAVALIERE, M.J. Frequência de esfregaços cêrvico-vaginais anormais em adolescentes e adultas: revisão de 308.630 casos. *Revista Instituto Adolfo Lutz*. 62(1): 31-34, 2003.
- 15- LORETO, C.D., MAEDA, M.Y.S.; PEREIRA, G.M.C.; LONGATTO FILHO, A.; CAVALIERE, M.J. Papilomavirus em Saúde Pública: Importância da aplicação de novos critérios morfológicos para sua detecção em trato genital feminino. *Bol. Inform. Union*, 15(59-60): 24-39, 1992.
- 16- LUZZATTO R, BOON M.E. Contribution of the endocervical cytobrush sample to the diagnosis of cervical lesions. *Acta Cytol*. 1996; 40:1143-7.
- 17- MARTINS V.M.; MARTINS, C.G. Prevenção do câncer genital e mamário. In: Halbe H W, organizador. *Tratado de Ginecologia*. 3ª ed. São Paulo: Roca, 1993, p.127-307.
- 18- MCCORD M. L.; STOVALL T. G; MERIC J. L; SUMMITT R. L; COLEMAN S. A. Cervical cytology: a randomized comparison of four sampling methods. *Am J Obstet Gynecol*. 1992; 166:1772-9.
- 19- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Controle do câncer do colo do útero: Programa Nacional de

Controle do Câncer do colo Uterino. [http://portal.saude.gov.br/saude/]. Brasília (DF); 2001 [citado 2006 Maio 23].

20- MINISTÉRIO DA SAÚDE - Instituto Nacional do Câncer. Estimativa de incidência e mortalidade por câncer no Brasil. [http://dtr2001.saude.gov.br/editora/]. Rio de Janeiro, 2001 [citado 2006 Maio 23].

21- NETO, A.R. FOCCHI, J.C.L.R; BARACAT, E.C. Avaliação dos métodos empregados no Programa Nacional de combate ao Câncer do Colo Uterino do Ministério da Saúde. *RBGO*, v.23, nº4, p.209-15, 2001.

22- NIELSEN, M. L.; DAVEY, P. D.; LEINE, T. S. 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 Cytopath*. 9(4):394-403, 1993.

23- RICHARD R.M. The natural history of cervical intraepithelial neoplasia. *Clin Obstet Gynecol*, 10:748-784, 1967.

24- ROPELATTO, C.; SERAPIÃO, M. HAAS, P. Avaliação do diagnóstico citológico cêrvico-vaginal no laboratório de Anatomia Patológica Serapião da cidade de Rio do Sul/SC. *Rev. LAES&LAES*. São Paulo – SP. Ed.134 DEZ-JAN, 2002.

25- SAITO, S.; YAKAMOTO, L.S.U.; UTAGAWA, M.I.; LONGATTO FILHO, A.; HARDT, I.I.; FAGUNDES, M.C.S. Frequência de agentes etiológicos em amostras citológicas cêrvico-vaginais inflamatórias e lesões precursoras para câncer cervical. *Rev. LAES&HAES*, São Paulo, SP. Ed.130 p218-222, abr-mai 2001.

26- SHINGLETON, H.M; Orr JrJw. *Cancer of the cervix*. Philadelphia: J.B. Lippincott; 1995.

27- SILVA FILHO, A. M.; LONGATTO FILHO A. Colo uterino e vagina: processos inflamatórios (aspectos histológicos, citológicos e colposcópicos). 1 ed. Rio de Janeiro: Editora revinter, 2000, p. 43-44.

28- SOLOMON D., DAVEY D., KURMAN R., MORIARTY A., O'CONNOR D., PREY M., RAAB S., SHERMAN M., WILBUR D., WRIGHT T.JR.; YOUNG N. Forum Group Members. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*, 287: 2114-2119, 2002.

29- SOLOMON, D. & NAYAR, R. Sistema Bethesda para Citopatologia Cervicovaginal. Definições, Critérios e Notas Explicativas. Ed. Revinter – Rio de Janeiro – RJ. IIª Ed. P.123-47, 2005.

30- THIESEN, K.; SILVA, A.S. da; FILIPINI, C.A.F.; ROPELATTO, C.; BIANCHINI, E. e HAAS, P. Avaliação do Diagnóstico Citológico Cêrvico-Vaginal na Policlínica de Referência Regional I de Florianópolis. *Revista LAES&HAES*, São Paulo, SP ED.132 p190-201, 2001.

31- UTAGAWA, M.L.; LORETO, C.; MAEDA, M.Y.S.; KANAMURA, M.T.; LONGATO FILHO, A. Papilomavirus Humano em esfregaços citológicos de mulheres acima de 50 anos: estudo morfológico e de hibridização "in situ" nas respectivas biópsias. *J. Brás. Gin*, 107(4): 83-87, 1997.

32- VAUCHER, R.A.; SANTOS, F.R. e VARGAS, V.R.A. Índice de concordância entre dois diferentes observadores na revisão de esfregaços citológicos cêrvico-vaginais anteriormente diagnosticados como ASC-US: utilização da técnica convencional de Papanicolaou. *RBAC*, Vol.38(1):29-33, 2006.

33- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cytological screening in the control of cervical cancer:technical guidelines. GENEVA: WHO; 1988.

34- ZEFERINO, L.C.; CATHARINO, J.M.R.; ARAUJO, M.A.S.; SILVA, L.C.B.; VEDOATO, S.R.; TAMBASCIA, J.K. e MARTINEZ, E.Z. Desempenho das Amostras do canal Cervical e do Fundo de Saco no Diagnóstico da Neoplasia do Colo Uterino. *Rev. Brás. de Ginecologia e Obstetria*. v. 22(3): 129-134, 2000.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Profa. Dra. Andréia Buffon
Faculdade de Farmácia - UFRGS
Rua Av Ipiranga no2752, Bairro Santana
Porto Alegre, RS, Brasil
CEP: 90610-000
Tel.: (0XX51) 33085276
E-mail: andréia.buffon@ufrgs.br

38º

Congresso Brasileiro
de Análises Clínicas



11º
Congresso Brasileiro
de Citologia Clínica

26 a 29 de junho de 2011
Expo Unimed - Curitiba/PR

Realização



Incidência de fungos anemófilos do gênero *Aspergillus* presentes no ar durante o período de reforma em ambiente hospitalar

Incidence of airborne spoilage fungi and identification from *Aspergillus* Genus present in hospital atmosphere during the period of reforms

Andréia Gaio¹; Mário L. Teixeira¹; Alexandre Meneghello Fuentefria^{2*}

RESUMO - Com o intuito de caracterizar a frequência de fungos anemófilos do gênero *Aspergillus* em ambiente hospitalar durante o período de reformas, coletou-se o ar interno e externo do Centro de Terapia Intensivo (CTI) adulto e, o ar do centro cirúrgico, em dois diferentes pontos. O primeiro, há cerca de um metro da reforma e, o segundo ponto, há 10 metros de distância. As coletas foram realizadas em um hospital do oeste do estado de Santa Catarina, durante o mês de fevereiro de 2008, nos períodos da manhã e da tarde, três vezes por semana. Foram coletadas 52 amostras, onde houve o isolamento de 323 colônias de fungos anemófilos, sendo que destes, 11 amostras (21%) continham colônias típicas de *Aspergillus*, dos quais nenhum era da espécie *A. niger* ou *A. flavus*, ou seja, as 32 colônias (10%) isoladas pertenciam exclusivamente à espécie *A. fumigatus*. A caracterização dos fungos de ambientes internos de áreas críticas de hospitais tem sido mundialmente reconhecida como importante medida visando reduzir substancialmente a morbidade, mortalidade e os altos custos hospitalares. O monitoramento de contaminantes ambientais em hospitais deve ser frequentemente realizado, principalmente em área especiais com pacientes imunocomprometidos, sujeitos à exposição de patógenos do meio ambiente.

Palavras-chave: *Aspergillus* sp.; fungos anemófilos; reforma; infecção hospitalar.

SUMMARY - With the intention of characterizing the frequency of airborne spoilage fungi from *Aspergillus* genus in hospital atmosphere during the period of reforms, was collected the internal and external air of adult Intensive Therapy Center (ITC) and the air of the surgical center, in two different places. The first, about a meter of the reform and the second point, there are 10 meters away. The collections were accomplished in the west hospital from Santa Catarina state, during the month of February of 2008, in the period of the morning and of the afternoon, three times a week. Starting from 52 samples, there was the isolation of 323 colonies of airborne fungi, and of these, 11 samples (21%) had typical colonies of *Aspergillus* genus, none of which was the species *A. niger* or *A. flavus*, ie, the 32 colonies (10%) isolates belonged exclusively to the species *A. fumigatus*. The characterization of the moulds of internal atmospheres of critical areas of hospitals has globally been recognized as important measure seeking to reduce the morbidity, mortality and the high hospital costs substantially. This way, the environmental sources monitory should be realized, mainly in special rooms with immunosuppressed patient, subjects to the exhibition of pathogen environment.

Keywords: *Aspergillus*; airborne spoilage fungi; built; hospital infection.

INTRODUÇÃO

A infecção hospitalar (IH), conceitualmente considerada como toda infecção adquirida ou transmitida no espaço hospitalar, se tornou um problema de saúde pública, principalmente após o aparecimento de microrganismos multirresistentes aos antimicrobianos usados rotineiramente na prática hospitalar¹. As doenças ocasionadas geralmente possuem risco de morte, embora seja mais ocorrente em pacientes com baixa resistência ou devido a microrganismos de alta patogenicidade^{1,2}. A infecção hospitalar é influenciada principalmente por três fatores principais: a virulência do microrganismo, a suscetibilidade do hospedeiro e o ambiente hospitalar. Entretanto, a preocupação com o controle rigoroso da contaminação do ambiente, por ser um fator emergente, ainda está sendo implantado na maioria dos hospitais brasileiros, principalmente no tocante a microbiota fúngica, embora seja conhecida sua

importância principalmente em áreas críticas como centro cirúrgico e unidade de terapia intensiva¹.

As infecções fúngicas de origem hospitalar passaram a ter grande importância nos últimos anos, pelo seu aumento progressivo e pelas elevadas taxas de morbidade e mortalidade^{2,3}. Algumas dessas infecções são de origem endógena, entretanto, muitas outras podem ser adquiridas por via exógena. Nesta, a principal forma de dispersão dos fungos no ambiente hospitalar é feita através de insetos, água, funcionários, pacientes e/ou transeuntes e, principalmente, pelo ar atmosférico através dos ventos^{4,5,6}.

Os fungos causam vários tipos de micoses, sendo as oportunistas aquelas que apresentam maior interesse clínico, devido a sua gravidade. A aspergilose é uma micose oportunista causada por diferentes espécies do gênero *Aspergillus*, sendo *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus* e *A. nidulans* as espécies mais frequentes, sendo considerada, dentre as infecções por fungos anemófilos, a que mais comumente ocorre^{4,6,7}.

Recebido em 04/08/2008

Aprovado em 02/02/2010

¹Curso de Farmácia - Universidade do Contestado - UnC

²Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA; Departamento de Análises -
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

A determinação da composição e concentração de microrganismos anemófilos de áreas internas e externas, de locais críticos em hospitais tem sido pouco pesquisada, mas alguns estudos têm enfatizado sua importância, devido ao aparecimento de agentes de infecções nosocomiais⁸. Pesquisas na última década observaram que o trabalho de demolição em hospitais estão associados com o aumento da contagem de colônias no ar externo e interno, não-protetidos com filtros HEPA (*High Efficiency Particulate Air*), os quais somente voltam aos níveis basais após cerca de uma semana do seu término^{9,10}.

Assim, levando em conta a importância da monitorização dos bioaerossóis fúngicos, principalmente em ambientes que necessitam rígido controle microbiológico, como em ambulatórios e ambientes hospitalares, se faz necessária a avaliação da contaminação em condições especiais, como numa reforma. Por isso, o objetivo deste estudo foi analisar a presença de fungos anemófilos do gênero *Aspergillus* em ambiente hospitalar, durante o período das obras de reformulação do Centro Cirúrgico (CC) e de áreas aos redores do Centro de Terapia Intensiva (CTI), em um hospital do oeste de Santa Catarina.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado durante todo o mês de fevereiro de 2008, exatamente no período de demolição de paredes, nas áreas internas do CC, e de um prédio próximo (20 metros) ao acesso secundário da CTI.

As coletas de ar no CC foram realizadas no ambiente interno de duas salas, 1 e a 6, respectivamente. Primeiramente, num ponto próximo (cerca de um metro) ao isolamento de área feito pelo responsável da obra (sala 1) e, em outro ambiente mais distante (sala 6), ao final do corredor, há uma distância de cerca de 10 metros. No ambiente interno do CTI adulto, a coleta foi realizada próxima à entrada secundária do setor, bem como na parte externa a esse acesso. As coletas foram feitas três vezes por semana, duas vezes por dia (no final da manhã e no final da tarde), no período de um mês, totalizando 52 coletas.

Placas de Petry contendo Ágar Sabouraud foram expostas aos ambientes por aproximadamente 15 minutos e há uma altura de 1 metro e 20 centímetros de acordo com Gambale *et al.* (1993)¹¹. Este método baseia-se na sedimentação de esporos dos fungos anemófilos, sobre a placa em questão, colocada em posição horizontal. Após este período, as placas foram levadas ao laboratório de Microbiologia da Universidade do Contestado (UnC), Campus de Concórdia, SC. As placas após a exposição, foram mantidas por quatro dias em estufa a 25°C, sendo iniciada a classificação a partir deste dia. A identificação foi feita por microscopia direta da colônia na placa e pela técnica do microcultivo, de acordo com Lacaz *et al.* (2002)¹² e Neufeld (1999)¹³. Somente as colônias com características do fungo do gênero *Aspergillus* foram identificadas e classificadas a espécie.

RESULTADOS

Fungos potencialmente patogênicos e toxigênicos foram isolados em todos os ambientes e, em ambos períodos (Figura 1). Foram coletadas 52 amostras, onde houve o isolamento de 323 colônias de fungos anemófilos, sendo que destes, 11 amostras (21%) continham colônias típicas de *Aspergillus*, dos quais nenhum era da espécie *A. niger* ou *A. flavus*, ou seja, as 32 colônias (10%) isoladas pertenciam exclusivamente à espécie *A. fumigatus*.

A figura 1 ilustra o número de cepas de fungos anemófilos isolados em cada ambiente no período da manhã e da tarde em fevereiro de 2008, sendo que apenas as cepas de *A. fumigatus* foram isoladas.

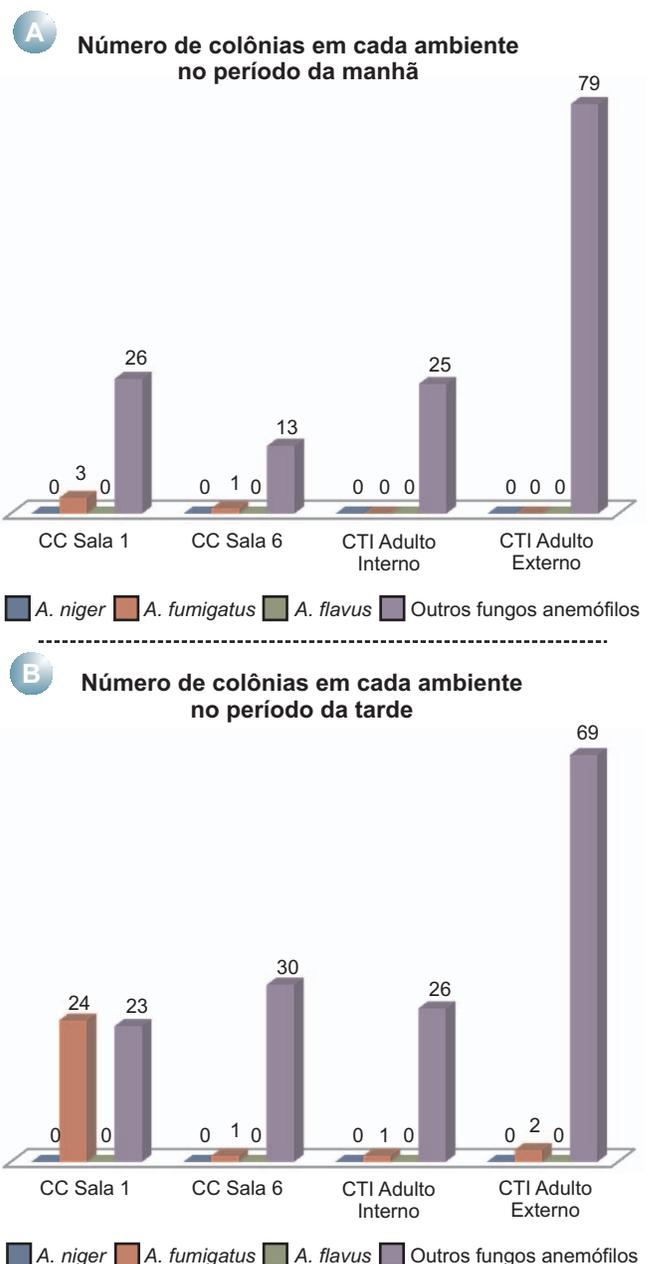


Figura 1: Número de colônias de fungos anemófilos isolados do centro cirúrgico e CTI adulto no período da manhã (A) e no período da tarde (B) em coleta realizada em fevereiro de 2008.

Como citado anteriormente, no centro cirúrgico as coletas foram realizadas em uma sala (sala 1) próxima a separação feita para a reforma e, em uma segunda sala (sala 6), ao final do corredor, distante aproximadamente 10 metros da obra. Nas duas primeiras semanas, período intensivo de demolição de paredes, houve um aumento de isolados de fungos tanto no CC quanto no CTI (Tabela 2), principalmente no período da tarde (Figura 1), diminuindo gradualmente no passar das duas semanas seguintes, evidenciando a importância do monitoramento ambiental para a orientação de medidas preventivas. Na Tabela 2 pode-se observar que o *Aspergillus fumigatus* foi encontrado durante seis coletas consecutivas a cada dois dias. Nas últimas três coletas não houve isolamento de *A. fumigatus* em nenhum dos ambientes.

As coletas realizadas no CTI adulto coincidiram com o período de demolição de uma edificação próxima 20 metros.

Tabela 1 - Microcultivos realizados para identificação de fungos do gênero *Aspergillus* isolados no centro cirúrgico (CC) e no centro de terapia intensiva para adulto (CTI).

Amostra	Ambiente	Espécie	Data/Período
1	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	07/02-Tarde
2	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	07/02-Tarde
3	CC Sala 1	Não <i>Aspergillus</i>	07/02-Tarde
4	CC Sala 6	Não <i>Aspergillus</i>	07/02-Tarde
5	CTI Ad Interno	<i>A. fumigatus</i>	07/02-Tarde
6	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	11/02-Manhã
7	CC Sala 6	<i>A. fumigatus</i>	11/02-Manhã
8	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	13/02-Manhã
9	CTI Ad Externo	Não <i>Aspergillus</i>	13/02-Manhã
10	CTI Ad Externo	Não <i>Aspergillus</i>	13/02-Manhã
11	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	15/02-Tarde
12	CC Sala 6	Não <i>Aspergillus</i>	15/02-Tarde
13	CTI Ad Interno	Não <i>Aspergillus</i>	15/02-Tarde
14	CTI Ad Externo	Não <i>Aspergillus</i>	15/02-Tarde
15	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	18/02-Tarde
16	CC Sala 6	<i>A. fumigatus</i>	18/02-Tarde
17	CTI Ad Interno	Não <i>Aspergillus</i>	18/02-Tarde
18	CTI Ad Externo	<i>A. fumigatus</i>	18/02-Tarde
19	CC Sala 1	<i>A. fumigatus</i>	20/02-Manhã

Tabela 2 - Número de cepas de *Aspergillus* isoladas dias amostrados no centro cirúrgico (CC) e no centro de terapia intensiva para adulto (CTI).

Dia	<i>A. fumigatus</i>	
	CC	CTI Ad
1	16	1
2	2	0
3	1	0
4	1	1
5	8	1
6	1	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0

Os achados encontrados no ambiente interno ao CTI adulto, ou seja, internamente na sala, são inferiores aos encontrados no ambiente externo, no corredor de acesso, podendo observar que o ar contaminado no ambiente externo pela demolição não foi veiculado para o interior da unidade. Em relação ao turno de coleta, os esporos de *A. fumigatus* estiveram mais presentes no período da tarde, no ambiente externo à unidade, embora o número de isolados de outros fungos anemófilos foi bem maior (Figura 1).

DISCUSSÃO

Os fungos apresentam uma variação muito ampla em sua incidência, de acordo com a estação do ano, temperatura, umidade relativa do ar, hora do dia, velocidade e direção dos ventos, presença de atividade humana e tipo de climatização dos ambientes^{6,7,12,13}.

A determinação da quantidade e diversidade de microrganismos anemófilos, de ambientes internos e externos, em áreas críticas de hospitais, tem sido pouco pesquisada, mas alguns estudos têm enfatizado sua importância, principalmente devido ao aumento desses agentes em infecções nosocomiais^{3,4,6,7}. O número de estudos que abordam o tema no Brasil ainda é pequeno, assim há poucos dados relativos à microbiota fúngica de hospitais. Silva (1983)¹⁴ verificaram a microbiota fúngica do ar e de pisos de um hospital e encontraram principalmente *Cladosporium* spp. (65,0%), *Aspergillus* spp. (37,1%), *Fusarium* spp. (20,1%), *Penicillium* spp. (19,8%) e outros em menor porcentagem.

Como observado na Figura 1, houve um aumento no isolamento de *A. fumigatus* no período da tarde, o que caracteriza que neste turno houve um aumento da contaminação do ar pelos seus esporos. Apesar de haver sido colocado um isolamento da área pelos trabalhadores da obra, observa-se que as mesmas não foram suficientes para isolar a área e prevenir a contaminação.

No estudo de Martins-Diniz *et al.* (2005)⁸, sobre monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar, demonstraram que houve diferença significativa na contagem de fungos anemófilos em relação aos meses de amostragem. O gênero predominante foi encontrado em índices mais altos nos ambientes externos, quando comparados aos internos, principalmente no período da tarde. Esses resultados corroboram com os encontrados em nosso estudo, pois no centro cirúrgico pôde-se observar esta mesma diferença entre os índices do período da manhã e da tarde, sendo que a sala 1 (mais próxima à reforma) continha índices mais altos do que a sala 6 (mais distante da reforma). Já no CTI adulto, os índices encontrados também foram mais altos no ambiente externo, porém não houve diferença entre os períodos da manhã e da tarde, como observado na Figura 1.

Vários estudos sugerem que a distribuição de fungos, tanto em termos de concentração como nos diferentes gêneros existentes, variam entre as áreas geográficas e são influenciados por fatores ambientais e sazonais^{6,7,10,12,13,15,16}. Todos esses estudos demonstraram que o número de fungos encontrados em amostras obtidas de ar externo sofre variação

entre verão e inverno, sendo sempre encontrados em maior número no verão, ou seja, são encontrados números elevados de fungos em ambientes mais quentes e com alta umidade relativa do ar. Outro fator destacado pelos autores é em relação ao aumento do número de isolados no período da tarde, agora tanto em ambientes internos e externos, que está diretamente influenciado pela movimentação humana no local, que elevaria os esporos fúngicos depositados no chão. De qualquer forma, é importante ressaltar que o controle de ambiente, pelas comissões de controle de infecção hospitalar, obviamente também incluem o controle dos contaminantes aderidos ao piso do ambiente, principalmente em suas arestas².

Em nosso estudo, numa avaliação piloto antes do início da construção, demonstrou-se um número baixo de colônias isoladas, bem como após o término da obra. Esse dado corrobora com Bouza *et al.* (2002)⁹ que também observaram que a demolição de paredes em um hospital estava associada com aumento da contagem de colônias no ar externo e interno não-protetidos com filtros HEPA, voltando a níveis basais após 11 dias. Neste estudo *A. fumigatus* foi isolado em maior quantidade, seguido por *Penicillium spp.*, *A. niger*, *A. flavus*, *Aspergillus sp.*, *Fusarium spp.*, dentre outras espécies.

CONCLUSÃO

A caracterização de fungos presentes no ar de ambientes internos e externos, de áreas críticas de hospitais, é uma medida de suma importância para reduzir a morbidade, mortalidade e o aumento dos custos hospitalares com medicação continuada.

Esse monitoramento deve ser realizado de forma periódica, principalmente em salas especiais com pacientes imunocomprometidos, que estão sujeitos à exposição de patógenos do meio ambiente. Desta forma é possível orientar medidas para o seu controle, bem como sensibilizar as autoridades de saúde para situações semelhantes quanto ao demonstrado neste estudo, salientando os riscos de alterações estruturais em ambientes que requerem alto controle microbiológico.

REFERÊNCIAS

- 1- TACCONELLI, E. Screening and isolation for infection control. J. Hosp. Infect. 2009 [Epub ahead of print].
- 2- BARSANTI, M.C.; WOELTJE, K.F. Infection prevention in the intensive care unit. Infect. Dis. Clin. North. Am. 23:703-25, 2009.
- 3- ZILBERBERG, M.D.; SHORR, A.F. Fungal infections in the ICU. Infect. Dis. Clin. North. Am., 23: 625-42, 2009.
- 4- VONBERG, R.P.; GASTMEIER, P. Nosocomial aspergillosis in outbreak settings. J Hosp Infect.,63: 246-54. 2006.
- 5- PFFALER, M.A. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. Clin. Infect. Dis., 22: 89-94, 1996.
- 6- EAMES, I.; TANG, J.W.; LI, Y.; WILSON, P. Airborne transmission of disease in hospitals. J. R. Soc. Interface, 6: 697-702, 2009.
- 7- MEZZARI, A.; PERIN, C.; SANTOS, JR. A.S.; BERND, L.A.G.; GESU, G.D. Fungos anemófilos e sensibilização em indivíduos atópicos em Porto Alegre, RS. Rev. Assoc. Med. Bras., 49: 270-273, 2003.
- 8- MARTINS-DINIZ, J.N.; SILVA, R.A.M.; MIRANDA, E.T.; MENDES-GIANNINI, M.J.S. Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. Rev. Saúd. Públ., 39: 398-405, 2005.
- 9- BOUZA, E.; PELÁEZ, T.; PÉREZ-MOLINA, J.; MARIN, M.; ALCALÁ, L.; PADILLA, P. Demolition of a hospital building by controlled explosion: the impact on filamentous fungal load in internal and external air. J. Hosp. Infect., 52: 234-242, 2002.
- 10- OVERBERGER, P.A.; WADOWSKY, R.M.; SCHAPER, M.M. Evaluation of airborne particulates and fungi during hospital renovation. Am. Ind. Hyg. Assoc., 56: 706-712, 1995.
- 11- GAMBALE, W.; PURCHIO, A. A influência de fatores abióticos na dispersão aérea de fungos na cidade de São Paulo. Rev. Microbiol., 14:204-214, 1983.
- 12- LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C.; HEINS-VACCARI, E.M.; MELO, N.T. Tratado de micologia médica Lacaz. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 1120p.
- 13- NEUFELD, P.M. Manual de micologia medica - Técnicas básicas de diagnóstico. 1. ed. Rio de Janeiro: Programa. Nacional de Controle de Qualidade, 1999, 240p.
- 14- SILVA, M.G. Estudo da flora fúngica do ar e do piso do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, Minas Gerais (Dissertação de Mestrado) Instituto de Ciências Biológicas: Universidade Federal de Minas Gerais, 1982.
- 15- LEENDERS, A.C.A.P.; VAN BELKUM, A.; BEHRENDT, M.; LUIJENDIJK, A.D.; VERBRUGH, H.A. Density and molecular epidemiology of *Aspergillus* in air and relationship to outbreaks of *Aspergillus* infection. J. Clin. Microbiol., 1752-1757, 1999.
- 16- TAVORA, L.G.F.; GAMBALE, W.; HEINS-VACCARI, E.M.; ARRIAGADA, G.L.H.; LACAZ, C.S.; SATOS, C.R., *et al.* Comparative performance of two air samples for monitoring airborne fungal propagules. Braz. J. Med. Biol. Res., 36: 613-616, 2003.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Prof. Dr. Alexandre M. Fuentesfria,
Universidade Federal do Pampa, Campus de Uruguaiana,
BR 472 - Km 592, - Uruguaiana, RS, CEP 97500-970, Brasil
e-mail: alexmf77@gmail.com

38°

Congresso Brasileiro
de Análises Clínicas



11°

Congresso Brasileiro
de Citologia Clínica

26 a 29 de junho de 2011
Expo Unimed - Curitiba/PR

Realização
SBAC
Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

Todo mundo vai estar lá!

Prevalência de heterozigotos para hemoglobinopatias em estudantes universitários do Ceará*

The prevalence of heterozygotes for hemoglobinopathies among undergraduate students of Ceará*

Maria Luíza Quinderé Saraiva¹, Rita Marinei de Vasconcelos Coelho², Sônia Leite da Silva³, Renato Motta Neto⁴, Daisy Maria Meireles Arruda³, Silvia Fernandes Ribeiro da Silva³

RESUMO - As hemoglobinopatias são doenças genéticas freqüentes que apresentam morbidade significativa em todo mundo. A detecção de heterozigotos AS e AC é extremamente importante para a saúde pública, uma vez que esses indivíduos podem originar indivíduos homozigotos SS ou duplos heterozigotos SC. O presente estudo teve como objetivo determinar a prevalência de heterozigotos para hemoglobinopatias em estudantes universitários do Ceará e, em seguida, encaminhá-los para um profissional habilitado em aconselhamento genético. Do total de 235 amostras analisadas, 229 (97,5%) apresentaram perfil hemoglobínico normal (Hb AA), enquanto que em 6 (2,5%) foram identificadas hemoglobinas anormais. Destas, 5 (2,1%) apresentaram traços de hemoglobina S (heterozigose AS) e 1 (0,4%) amostra apresentou traços de hemoglobina C (heterozigose AC). A triagem de hemoglobina é importante para a prevenção de hemoglobinopatias, principalmente para os indivíduos que não foram beneficiados com a Portaria nº 822/01 do Ministério da Saúde que incluiu as hemoglobinopatias no Programa Nacional de Triagem Neonatal e, portanto, desconhecem o fato de serem portadores assintomáticos.

Palavras-chave: Hemoglobinopatias, heterozigotos, aconselhamento genético.

SUMMARY - Hemoglobinopathies are quite common genetic diseases which present significant morbidity worldwide. The early detection of AS and AC heterozygotes among prospective couples is of extreme importance in Health Public Policy making, since those individuals may give birth to homozygotes SS or double-heterozygotes, SC. This study aims to determine the prevalence of heterozygotes for hemoglobinopathies among undergraduate students of Ceará and then direct them to genetic counseling. Of the 235 samples analyzed, 229 (97.5%) had a normal hemoglobin profile (Hb AA), while 6 (2.5%) had abnormal hemoglobin. From the former, 5 (2.1%) samples presented traces of Hemoglobin S (AS heterozygose), and only 1 (0.4%) hemoglobin C (AC heterozygose). Hemoglobin tracing is a vitally important public health policy in the prevention of hemoglobinopathies, especially among individuals who have not benefited from the Brazilian Ministry of Health Directive # 822/01, which includes hemoglobinopathies in the National Neonatal Screening Program consequently they are unaware of being asymptomatic carriers

Keywords: Hemoglobinopathies, heterozygotes, genetic counseling.

INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias são doenças genéticas freqüentes que apresentam morbidade significativa em todo mundo (WEATHERAL & CLEGG, 2001). Apesar da existência de centenas de hemoglobinopatias hereditárias, apenas três delas figuram como problema de saúde no Brasil: a hemoglobina S, a hemoglobina C e a talassemia beta. As hemoglobinas S e C são mais freqüentes em indivíduos afro-descendentes e as talassemias predominam em regiões com a maior participação da colonização italiana (NAOUM, 1997; 2000).

Estima-se que no Brasil existam milhões de heterozigotos dos genes da hemoglobina S (heterozigoto AS), da hemoglobina C (heterozigoto AC) e da talassemia beta (heterozigoto AT). Os estudos realizados no Brasil relatam a prevalência de hemoglobinopatias principalmente em duas populações: os doadores de sangue e os neonatos (DUCATTI *et al.*, 2001; GRIGNANI

et al., 2006; PINHEIRO *et al.*, 2006; VIVAS *et al.*, 2006). Poucos são os estudos que realizam a triagem populacional das hemoglobinopatias; conseqüentemente, a grande maioria dos indivíduos desconhece o fato de serem heterozigotos para estes genes anômalos (BACKES *et al.*, 2005).

O presente estudo teve como objetivo determinar a prevalência de heterozigotos para hemoglobinopatias em estudantes universitários e, em seguida, encaminhá-los para um profissional habilitado em aconselhamento genético.

POPULAÇÃO E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal prospectivo no qual participaram 235 estudantes universitários que visitaram a tenda de prestação de serviços oferecido pelo Curso de Farmácia da Universidade de Fortaleza (UNIFOR) durante o Mundo UNIFOR, realizado em outubro de 2006 e 2007. A seleção dos estudantes foi aleatória e somente foram incluídos aqueles que se mostraram interessados em realizar a eletroforese de hemoglobina e assinaram voluntariamente o

Recebido em 07/03/2008

Aprovado em 03/01/2011

¹Farmacêutica, Curso de Farmácia da UNIFOR.

²Farmacêutica-Bioquímica do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará.

³Professores do Centro de Ciências da Saúde da UNIFOR

⁴Professor da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

* Trabalho desenvolvido na Universidade de Fortaleza - UNIFOR

Termo de Consentimento Esclarecido, após as informações fornecidas a cerca dos objetivos desta pesquisa. Na ocasião foram obtidos os dados como idade, gênero e o nome do Curso que o estudante estava matriculado. O projeto do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFOR sob o no 296/2007.

As amostras de sangue dos estudantes foram obtidas através da punção venosa, utilizando frascos contendo EDTA como anticoagulante. Após a coleta, as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Histocompatibilidade do Centro de Pesquisas em Doenças Hepato-Renais, onde foram conservadas a 4°C até o momento da realização da eletroforese de hemoglobina.

Inicialmente as amostras de sangue foram hemolisadas com solução de saponina a 1% e submetidas à eletroforese em gel de agar amido em pH alcalino (pH 8,6) com tampão Tris-EDTA-Borato. As amostras que apresentaram hemoglobinas anormais foram submetidas ao teste de solubilização e a eletroforese em pH ácido (NAUOM, 1997; ITANO, 1953).

A análise estatística foi realizada a partir da elaboração de uma planilha no Programa Microsoft Excell 2000, onde foram inseridas as informações sobre gênero, idade e resultado da eletroforese de hemoglobina dos participantes do estudo. A partir destes dados foram gerados percentuais das variáveis quantitativas que foram expressas como média \pm desvio padrão (valores mínimos e valores máximos) e os dados qualitativos foram expressos em porcentagem em relação à população do estudo.

RESULTADOS

Foi realizada a eletroforese de hemoglobina de 235 estudantes universitários, com média de idade de 22,4 \pm 4,4 (variação de 17 a 50 anos), sendo 177 (75,3%) do gênero feminino e 58 (24,7%) do gênero masculino, uniformemente distribuídos entre cinco faixas etárias (Tabela 1).

A Figura 1 ilustra o perfil das hemoglobinas normais e anormais das 235 amostras analisadas: 229 (97,5%) apresentaram perfil hemoglobínico normal (Hb AA), enquanto que em 6 (2,5%) foram identificadas hemoglobinas anormais. Destas, 5 (2,1%) apresentaram traços de hemoglobina S (heterozigose AS) e 1 (0,4%) amostra apresentou traços de hemoglobina C (heterozigose AC) (Tabela 2).

Dos 5 portadores de traço falciforme, apenas 1 (20%) era do gênero masculino e 4 (80%) do gênero feminino. O indivíduo que apresentou a hemoglobina AC era do gênero feminino.

Tabela 1. Distribuição dos 235 estudantes universitários do Ceará em função do gênero e da faixa etária.

Faixa etária	Homem	Mulher	Total
17-22 anos	40 (69%)	113 (63,8%)	153 (65%)
23-28 anos	12 (20,7%)	54 (30,5%)	66 (28,1%)
29-34 anos	3 (5,2%)	7 (4%)	10 (4,3%)
35-40 anos	2 (3,4%)	1 (0,6%)	3 (1,3%)
\geq 41 anos	1 (1,7%)	2 (1,1%)	3 (1,3%)
TOTAL	58 (24,7%)	177 (75,3%)	235 (100%)

Tabela 2. Distribuição do perfil hemoglobínico identificado em 235 estudantes universitários do Ceará.

Perfil Hemoglobínico	Frequência	
	n	%
Hb AA	229	97,5%
Hb AS	5	2,1%
Hb AC	1	0,4%
TOTAL	235	100%

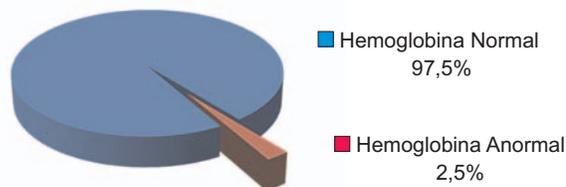


Figura 1. Distribuição do perfil hemoglobínico identificado em 235 estudantes universitários do Ceará.

DISCUSSÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde, 270 milhões de pessoas no mundo carregam, em seu patrimônio genético, hemoglobinas anormais em suas diferentes combinações e, como consequência, nasce cerca de 300 a 400 mil crianças anualmente com anemia falciforme ou com alguma forma de talassemia grave (WEATHERALL & CLEGG, 2001). No Brasil, o movimento migratório dos colonizadores favoreceu significativamente a dispersão dos genes anormais característicos das doenças falciformes e talassemias (LEONELI *et al.*, 2000; WAGNER *et al.*, 2005;). As hemoglobinas (Hb) S e C chegaram ao Brasil através do tráfico de negros, enquanto que as talassemias foram trazidas pelos europeus, especialmente oriundos da região do mar Mediterrâneo, que se estabeleceram no Sul e Sudeste do Brasil (NAOUM *et al.* 1987).

Vários estudos mostram que a Hb S e C são as variantes mais prevalentes na população brasileira (BACKES *et al.*, 2005; LEONELI *et al.*, 2000; VIVAS *et al.*, 2006). Do casamento ao acaso entre dois heterozigotos AS, ou do casamento de um indivíduo AS com heterozigotos de outras hemoglobinopatias também freqüentes na população (Hb C, β talassemia, etc.), podem nascer crianças com anemia hemolítica crônica incurável (anemia falciforme, doenças SC, S/ β talassemias, etc.) (RAMALHO *et al.*, 2003).

Nesse estudo, os dados obtidos da triagem de hemoglobinas demonstraram que 2,5% da nossa amostra de estudantes universitários do Ceará são portadores assintomáticos de hemoglobinopatias. Destes, 2,1% apresentaram heterozigose AS e 0,4% heterozigose AC. Essa taxa encontra-se abaixo dos valores relatados em estudos realizados em Pernambuco (Hb AS: 7,6% e Hb AC: 1,6%) e em

Sergipe (Hb AS: 4,1% e Hb C: 1,4%) (BARROS *et al.* 2006; VIVAS *et al.*, 2006). Por outro lado, são semelhantes aos valores determinados em doadores de sangue de Fortaleza (HbAS: 1,9% e HbAC: 0%) e do interior do Estado do Ceará (HbAS: 2,4% e HbAC: 0%) (VIEIRA, 2001; FIGUEIRÊDO, 1994). Entretanto, quando comparados esses dados com os resultados de um estudo realizado em recém-nascidos de Fortaleza, observa-se que os autores encontraram valores de Hb AS (3,8%) acima do encontrado no presente trabalho (PINHEIRO *et al.*, 2006). Essas variações na prevalência de heterozigose AS e AC relatada na literatura pode ser explicada com base nos grupos raciais que participaram na formação da população de cada região. O Ceará, ao contrário de outras regiões do Nordeste como Pernambuco e Sergipe, recebeu pequena influência da raça negra, em decorrência da própria estrutura da economia cearense no período de colonização. Por outro lado, a formação da população do Ceará recebeu forte influência da raça branca, oriunda de portugueses, e da indígena, devido às tribos nativas (GIRÃO, 1984). Além disso, a não padronização das técnicas utilizadas pelos autores pode ter influenciado, explicando as diferentes prevalências de hemoglobinopatias encontradas em uma mesma região. Pinheiro (2006) utilizou, para triagem neonatal, o sistema automatizado de cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), enquanto que no presente estudo foi utilizado a eletroforese em gel de agar amido pH 8,6 com tampão Tris-EDTA-Borato.

Estima-se que há aproximadamente 10 milhões de brasileiros heterozigotos para os genes da hemoglobina S, C e da talassemia beta (NAOUM, 2000). A detecção de heterozigotos é extremamente importante para a saúde pública, uma vez que esses indivíduos, além de representarem fonte de novos heterozigotos, podem, através de casamentos entre si, originar indivíduos homozigotos SS e duplos heterozigotos SC. Estes indivíduos heterozigotos desconhecem o fato de serem portadores da hemoglobinopatia (BACKES *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 1993). A partir deste conhecimento, estes indivíduos têm a oportunidade de receber informações e esclarecimentos de um profissional habilitado em aconselhamento genético.

Ramalho (1986) definiu aconselhamento genético como um processo que permite indivíduos ou famílias tomarem decisões conscientes e equilibradas a respeito da procriação. Os programas de orientação genética partem do princípio de que heterozigotos devidamente orientados poderão tomar decisões que lhe forem mais convenientes (PAIVA & RAMALHO, 1997). Atualmente, 2,5% dos estudantes deste estudo encontram-se informados do risco de 25% de gerar crianças homozigóticas e, se decidirem ter filhos, estarão conscientes da importância da realização do diagnóstico antes dos seis meses de idade. Dados da literatura mostram que o diagnóstico precoce, sobretudo ao nascimento, e o tratamento adequado melhoram significativamente a taxa de sobrevivência e a qualidade de vida dos doentes com anemia falciforme (PULTRINI *et al.*, 2004; RAMALHO, 1986; DUCATTI *et al.*, 2001).

Segundo Zago (2002), o aconselhamento genético,

em um contexto educativo, pode contribuir para reduzir a incidência de hemoglobinopatias de natureza incurável, como a anemia falciforme. Para tanto, todo o indivíduo tem direito de saber se apresentam heterozigose genética para que possam, após orientação por profissionais capacitados, tomar decisões conscientes e maduras sobre o futuro da sua prole (ANVISA, 2002).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo reforçam a necessidade de implantação de programas de saúde que possibilitem a identificação de hemoglobinas anormais em indivíduos que não foram beneficiados com a Portaria n° 822/01 do Ministério da Saúde, que incluiu as hemoglobinopatias no Programa Nacional de Triagem Neonatal. É bem provável que a maioria dos indivíduos nascidos antes dessa Portaria desconheça o seu estado de heterozigose para hemoglobinopatias. Entretanto, para que esses indivíduos não sejam rotulados erroneamente como doentes ou incapazes, é imperativo que esses programas de triagem sejam formados por profissionais qualificados, que forneçam informações éticas sobre aconselhamento genético. Além disso, devem também enfatizar a necessidade de investigação precoce de hemoglobinopatias, nos casos de crianças nascidas da união de pais com heterozigose AS ou AC.

REFERÊNCIAS

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Manual de Diagnóstico e Tratamento das Doenças Falciformes. Brasília: Ministério da Saúde, 2002.
2. BACKES, C. E.; MALLMANN, F. G.; DASSI, T.; BAZZO, M. L.; SANTOS-SILVA, M. C. - Triagem neonatal como um problema de saúde pública. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., 27 (1): 43-47, 2005.
3. BARROS, A. K. L.; ALMEIDA, M. I. M. & COELHO, J. S. - Estudo das hemoglobinopatias diagnosticadas no laboratório municipal da saúde pública do Recife - PE. NewsLab, 74: 92-106, 2006.
4. DUCATTI, R. P.; TEIXEIRA, A. E. A.; GALÃO, H. A.; BONINI-DOMINGOS, C. R.; FETT-CONTE, A. C. - Investigação de hemoglobinopatias em sangue de cordão umbilical de recém-nascidos do Hospital de Base de São José do Rio Preto. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., 23 (1): 23-29, 2001.
5. FIGUEIRÊDO, M. F. - Pesquisa do traço falcêmico em doadores de sangue do Centro de Hematologia e hemoterapia do Ceará, Regional Crato. Trabalho apresentado como requisito final ao Curso de Especialização em Hematologia (UFC), 1994.
6. GIRÃO, R. - A abolição no Ceará. Imprensa Oficial do Ceará. Secretaria de Cultura Turismo e Desporto. 3 ed. Fortaleza: A. Batista Fontenele, 1984, 302p.
7. GRIGNANI, C.; AMARAL, C. L.; IAMAMOTO, C. A.; GONÇALVES, T. O.; MASHIMA, D. A.; MATSUO, T.; PERIM, A. L.; CARVALHO, S. R. Q.; BREGANÓ, J. W.; FAVERO, M. E. - Prevalência de traço falciforme em doadores de sangue da região de Londrina - Paraná. Rev. Bras. Anál. Clín., 38 (4): 259-262, 2006.
8. ITANO, H. A. - Solubilities of naturally occurring mixtures of human hemoglobin. Arch. Biochem., 47 (1): 148-159, 1953.
9. LEONELI, G. G.; IMPERIAL, R. E.; MARCHI-SALVADOR, D. P.; NAOUM, P. C.; BONINI-DOMINGOS, C. R. - Hemoglobinas anormais e dificuldade diagnóstica. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., 22 (3): 396-403, 2000.
10. NAOUM, P. - Prevalência e controle da hemoglobina S. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., 22 (2): 142-148, 2000.
11. NAOUM, P. C. - Hemoglobinopatias e talassemias. 1 ed. São Paulo: Editora Sarvier, 1997, 1v.
12. NAOUM, P. C.; ALVAREZ FILHO, F.; DOMINGOS, C. R. B.; FERRARI, F.; MOREIRA, H. W.; SAMPAIO, Z. A.; MAZIERO, P. A.; CASTILHO, E. M. - Hemoglobinas anormais no Brasil: prevalência e distribuição geográfica. Rev. Bras. Pat. Clín., 23 (3): 68-79, 1987.
13. PAIVA E SILVA, R. B. & RAMALHO, A. S. - Riscos e benefícios da triagem genética. O traço falciforme como modelo de estudo em uma população brasileira. Cad. Saúde Pública, 13 (2): 285-294, 1997.
14. PINHEIRO, L. S.; GONÇALVES, R. P.; TOMÉ, C. A. S.; ALCÂNTARA, A. E. E.; MARQUES, A. R. C.; SILVA, M. M. - Prevalência de hemoglobina S em recém-nascidos de Fortaleza: importância da investigação neonatal. Rev. Bras. Ginecol. Obstet., 28 (2): 122-125, 2006.
15. PULTRINI, T.; PANICE-PEDRO, K. & ROSSI-FERREIRA, R. - Triagem neonatal para

hemoglobinopatias em municípios da região Oeste do Estado de São Paulo. Arq. Ciênc. Saúde, 11 (1): 20-24, 2004.

16. RAMALHO, A. S.; MAGNA, L. A. & PAIVA-SILVA, R. B. - A Portaria no 822/01 do Ministério da Saúde e as peculiaridades das hemoglobinopatias em saúde pública no Brasil. Cad. Saúde Pública, 19 (4): 195-199, 2003.

17. RAMALHO, A. S. - A talassemia minor como causa de anemia no estado de São Paulo. Rev. Bras. Patol. Clin., 22 (1): 32-38, 1986.

18. SILVA, R. B. P.; RAMALHO, A. S. & CASSAROLA, R. M. S. - A anemia falciforme como problema de Saúde Pública no Brasil. Rev. Saúde Pública, 27 (1): 54-58, 1993.

19. VIEIRA, C. F. - Prevalência da beta talassemia heterozigota nos doadores de sangue do hemocentro do Ceará – HEMOCE, no período de outubro de 2000 a dezembro de 2000. Trabalho apresentado como requisito final ao Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia (HEMOCE), 2001.

20. VIVAS, W. L. P.; REBOUÇAS, D. S.; FABBRO, A. L. D. & CIPOLOTTI, R. - Heterozigose para hemoglobinopatias em doadores de sangue do Centro de Hemoterapia de Sergipe. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., 28 (4): 284-287, 2006.

21. WAGNER, S. C.; SILVESTRI, M. C.; BITTAR, C. M.; FRIEDRISCH, J. R.; SILLA, L. M. R. -

Prevalência de talassemia e homoglobinas variantes em pacientes com anemia não ferropênica. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., 27 (1): 37-42, 2005.

22. WEATHERALL, D. J. & CLEGG, J. B. - Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. Bulletin of the World Health Organization, 79 (8): 704-712, 2001.

23. ZAGO, M. Considerações gerais. In: MacDowell B, organizadora. - Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2002, p. 7-11.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Silvia Fernandes Ribeiro da Silva
Rua Arquiteto Reginaldo Rangel, 55 Apto 801
Cocó / CEP 60.191250 / Fortaleza-CE
e-mail: silviafernandes@unifor.br



Excelência de Conhecimento em Diagnóstico Laboratorial



CURSOS DE PÓS-GRADUAÇÃO LATO SENSU:

ANÁLISES CLÍNICAS
HEMATOLOGIA CLÍNICA
MICROBIOLOGIA CLÍNICA
CITOLOGIA CLÍNICA
GESTÃO EM LABORATÓRIO CLÍNICO

CURSOS DE TREINAMENTO PROFISSIONAL:

MICROBIOLOGIA
HEMATOLOGIA
IMUNOLOGIA

Muito mais do que um curso ...

... uma referência!



Centro de Pós-Graduação da
Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

INFORMAÇÕES E INSCRIÇÕES:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Rua Vicente Licínio, 99 Tijuca Rio de Janeiro - RJ
CEP: 20.270-902

Fone: 21 2187 - 0800
Fax: 21 2187 - 0805
E-mail: cpg@sbac.org.br

CPG - SBAC. Quem sabe o que quer... faz!

Pesquisa de β -Lactamases em bactérias Gram-Negativas de origem comunitária e hospitalar em Campina Grande – PB

Search β -Lactamases in Gram-Negative bacteria from the community and hospital Campina Grande-PB

Daniela Araújo Vilar¹, Patrícia Maria de Freitas e Silva², Marina S. Araújo Vilar³, Heronides Silva Pereira⁴

RESUMO - A resistência clássica aos antibióticos β -lactâmicos baseada apenas na leitura dos halos dos antibiogramas pela técnica de Kirby e Bauer pode, nos dias de hoje, induzir sérios erros na clínica diária de consultórios médicos e, a longo prazo, favorecer a seleção de cepas multiresistentes. De acordo com a literatura médica vigente, as bactérias capazes de produzir enzimas chamadas beta-lactamases (ESBL e AmpC), são resistentes a outros antibióticos beta-lactâmicos, independente de existirem halos de sensibilidade no antibiograma convencional a penicilinas e cefalosporinas. O objetivo desse estudo foi identificar bactérias Gram-negativas que produzem beta-lactamases num laboratório privado de Análises Clínicas e, ao mesmo tempo, amostras de casos de infecção hospitalar de Janeiro a Junho de 2008. Sessenta e quatro (64) bactérias Gram-negativas foram estudadas, 30 delas de origem comunitária, considerando que 27% e 17%, respectivamente, demonstraram fenótipos ESBL e AmpC. *Escherichia coli* foi a maior produtora de ESBL (50%) e AmpC (25%), ambos no trato urinário. Para as 34 cepas de origem hospitalar apenas 3% foi produtora de AmpC e nenhuma produtora de ESBL. O emprego de técnicas laboratoriais padronizadas e eficazes para a detecção de amostras produtoras de ESBL e AmpC poderá inibir ou limitar o aparecimento de β -lactamases e evitar a perda gradativa de antibióticos potentes do arsenal terapêutico.

Palavras-chave: β -lactamases. Gram-negativos. Resistência.

SUMMARY - The classical resistance of microorganisms to beta-lactamic antibiotics based only on the reading of the antibiogram by Kirby & Bauer technique may, nowadays, induce serious mistakes related to patients treatment and also facilitate the selection of multiresistant strains of bacteria. According to medical literature, bacteria able to produce the enzymes named beta lactamases are also resistant to other beta-lactamic antibiotics, no matter if there are sensitive halos in the antibiogram to penicilins and cephalosporins. This study's aim was identifying Gram-negative bacteria that produce beta lactamases like ESBL (extended spectrum beta lactamases) or AmpC in a private clinic laboratory's samples and at the same time in samples of a hospital infections cases, from January to June, 2008. 64 Gram-negative bacteria were studied, 30 out of them were from community, considering that 27% and 17% demonstrated phenotypes ESBL and AmpC, respectively. *Escherichia coli* was the greater ESBL producing bacteria (50%) and AmpC (25%) both from urinary tract. As to the 34 strains from hospital origin, only 3% was AmpC producing bacteria and none of them was ESBL positive. The use of efficient laboratory techniques to detect producing ESBL and AmpC bacteria may limit the appearance of beta lactamases and avoid the gradative loss of good antibiotics of the therapeutic arsenal.

Keywords: β -lactamase. Gram-negative. Resistance.

INTRODUÇÃO

As bactérias Gram-negativas são de grande importância como causadores de infecções, tanto em pacientes ambulatoriais como no ambiente hospitalar, não apenas por seus fatores de virulência, mas porque podem apresentar resistência a várias classes de antimicrobianos³.

Os β -lactâmicos representam a classe mais variada e mais amplamente utilizada de antimicrobianos para o tratamento de infecções causadas por espécies de Enterobacteriaceae. Este grupo inclui penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos sendo responsável por aproximadamente 50% dos antimicrobianos utilizados de forma sistêmica, devido principalmente à sua baixa toxicidade e à grande variedade de compostos disponíveis⁷.

O principal mecanismo de resistência das

bactérias Gram-negativas aos β -lactâmicos é decorrente da produção de β -lactamases, enzimas que catalisam a hidrólise do anel β -lactâmico, impossibilitando, assim, sua atividade antimicrobiana. Dentre as beta-lactamases destacam-se aquelas de espectro ampliado (ESBL)⁶, mediada por plasmídios e AmpC, mediada por cromossomo. Assim, pacientes com infecções por enterobactérias produtoras de ESBL não devem ser medicados com antibióticos betalactâmicos, o que acarretaria falha terapêutica, agravamento do quadro infeccioso e pressão seletiva, favorecendo ainda mais a prevalência de cepas multiresistentes no ambiente, seja ele hospital ou comunidade.

Embora produtores de ESBL sejam prevalentes em ambientes hospitalares, já existem evidências de sua emergência e disseminação na comunidade. Esse fenômeno é complexo e tem múltiplas causas. Dentre os fenômenos que estão definitivamente vinculados à emergência de resistência

Recebido em 04/05/2009

Aprovado em 29/12/2010

¹Farmacêutica pela Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

²Profª Msc da disciplina de Microbiologia e Imunologia da UEPB

³Profª Msc da disciplina de Farmacologia e Bioquímica da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande (FCM)

⁴Profª Msc da disciplina Bioquímica Clínica da UEPB

em ambiente não hospitalar está a automedicação e o uso abusivo de antimicrobianos⁴.

Essa pesquisa propôs-se a identificar bactérias Gram-negativas produtoras de β -lactamases de espectro ampliado (ESBL) e AmpC, em amostras clínicas de um laboratório particular e em amostras provenientes de casos de infecção hospitalar de um hospital filantrópico, alertando para a importância do controle do uso racional de antimicrobianos em ambos os setores.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi do tipo transversal e exploratório, aconteceu entre os meses de janeiro a junho de 2008 tendo como material de estudo cepas bacterianas de bastonetes Gram-negativas pertencentes à Família *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae* cedidas de diversos espécimes comunitários de pacientes atendidos no laboratório privado (Hemoclin) e de pacientes portadores de infecção hospitalar em um hospital filantrópico (Fundação Assistencial da Paraíba) durante o período da pesquisa.

As culturas foram processadas inicialmente pelos laboratórios de origem. Após a realização de antibiograma pelo Método de Kirby & Bauer, as cepas que apresentaram halos de inibição ≤ 22 mm para ceftazidima, ≤ 17 mm para cefpodoxima, ≤ 27 mm para aztreonam, ≤ 27 mm para cefotaxima ou ≤ 25 mm para ceftriaxona para *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp.; e ≤ 17 mm para cefpodoxima, ceftazidima ou cefotaxima para *Proteus mirabilis* foram armazenadas em Agar simples e congeladas a -20°C para posterior pesquisa de beta-lactamases, de acordo com recomendações do CLSI (2005). Nestes casos, o CLSI sugere a realização de um teste confirmatório.

O teste confirmatório da produção de ESBL consiste na colocação de discos de cefalosporinas de amplo espectro como ceftazidima, cefuroxima, cefotaxima e aztreonam distantes 30 mm (centro a centro) de um disco que contenha inibidor de beta-lactamase, de preferência ácido clavulâmico. A produção de ESBL é indicada por uma deformação (aumento) nos halos de inibição ao redor dos discos beta-lactâmicos, ditas "ghost zone" ou zona fantasma após a leitura das placas, incubadas a 35°C por 24 horas, conforme Fig 1.

Para o teste de detecção de AmpC a melhor maneira de observar este fenômeno a nível fenotípico é através da metodologia da aproximação do disco, modificada. Nesta metodologia, coloca-se um disco de cefoxitina, próximo a um disco de aztreonam ou outro β -lactâmico (15 mm de centro a centro), e o aparecimento de uma zona em forma de "D", entre os dois discos é presuntivo da presença, de AmpC, conforme Fig2.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

No período, foram identificadas 64 bactérias Gram-negativas, sendo 30 cepas de origem comunitária e 34 cepas de origem hospitalar.

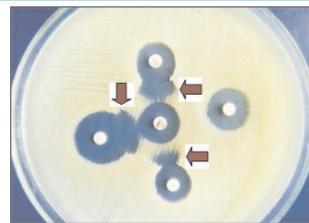


FIGURA 1: Presença de "ghost-zone".
Fonte: FREITAS et al., 2003.

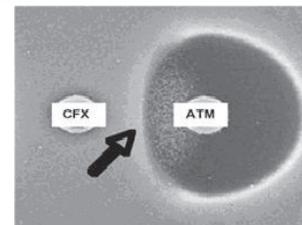


FIGURA 2: Presença da zona em forma de "D".
Fonte: COUDRON et al., 2003

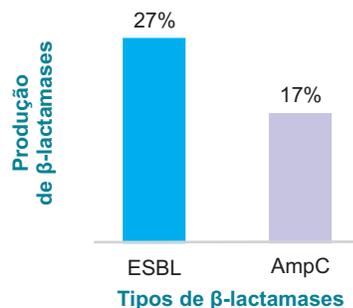


FIGURA 3: Percentual geral de bactérias Gram-negativas produtoras de β -lactamases no Hemoclin no período de janeiro a junho de 2008.

Dos 30 isolados bacterianos de origem comunitária 27% destes mostraram-se produtores de ESBL e 17% mostraram-se produtores de AmpC, conforme Fig 3.

Os números obtidos neste estudo para as bactérias produtoras de β -lactamases do tipo ESBL supera o valor encontrado em João Pessoa no ano de 2000 por Honório⁴, bem como o valor encontrado na mesma cidade no ano de 2008 por Araújo Filho¹, quando o percentual de 2,02% e 3,68%, respectivamente, dos Gram-negativos isolados também na comunidade eram de ESBLs-positivas, reforçando a teoria de que a incidência de ESBL varia com a área geográfica.

Conforme os dados da Fig 4, a espécie de bastonete Gram-negativo oriunda de material biológico comunitário mais isolada foi a *Escherichia coli* com 8 (27%).

Quanto à distribuição dos isolados bacterianos produtores e não produtores de ESBL de origem comunitária observou-se que o trato urinário foi o mais acometido com 38% das cepas produtoras do fenótipo ESBL, sendo que destas 67% foram *Escherichia coli*. Os nossos dados mostram alta produção de ESBL de origem comunitária e se assemelham aos obtidos por Freitas² que também obteve elevado nível, ou seja, 10% de isolados bacterianos de origem comunitária produtores de ESBL oriundos de *Escherichia coli* provenientes de infecções urinárias. Dentre os isolados bacterianos que apresentaram o

fenótipo produtor de ESBL de origem comunitária, destaca-se a *Escherichia coli* encontrada na urina em 50% e a *Klebsiella pneumoniae* a qual foi encontrada tanto na urina quanto em secreção.

Quanto à produção de AmpC em materiais clínicos de origem comunitária, *Escherichia coli* do trato urinário, também prevaleceu com 25% dos casos, conforme observado na tabela 2.

Das 34 cepas de enterobactérias oriundas de material biológico colhidos de pacientes de origem hospitalar, 3% mostraram-se produtores de AmpC e nenhuma delas mostraram-se produtoras de ESBL, de acordo com a tabela 3.

O presente estudo revelou a tendência da emergência de produção de ESBL na comunidade, inclusive com índices maiores que no ambiente hospitalar^{5,9,2}. A impossibilidade de encontrar ESBL nas amostras hospitalares estudadas decorre do fato de que não houve halo de sensibilidade que permitisse a caracterização do fenótipo em questão ou ter havido halo menor que o preconizado pelo CLSI. Mesmo assim foi realizado o teste confirmatório para ESBL e, como já era esperado, o resultado foi negativo para este fenótipo. Neste caso, poderia se pensar que a bactéria seria resistente ao antimicrobiano testado por outro mecanismo de defesa, como redução de porinas, por exemplo, porém não se pode descartar uma hiperprodução de ESBL que poderia ser visualizada *in vitro* sem formação de halo, uma vez que, a expressão da resistência dessa enzima depende da qualidade da mesma e da afinidade desta pelo substrato⁹.

De todos os isolados, envolvendo cepas comunitárias e hospitalares, a bactéria que mais produziu o fenótipo ESBL foi *Escherichia coli* com 50% dos casos sendo todas as cepas de origem comunitária e a que produziu o fenótipo AmpC foi *Klebsiella pneumoniae* com 25%, sendo 2 cepas de origem comunitária e 1 de origem hospitalar, Fig 5.

Recentemente, as ESBLs começaram a ser prevalentes em espécies produtoras de AmpC como *Enterobacter spp.*, *Citrobacter freundii* e *Serratia marcescens*. Cepas produtoras de ESBL e AmpC simultaneamente, dificulta a detecção de ESBL pois as enzimas AmpC mascaram o efeito inibitório obtido com ácido clavulânico nas bactérias produtoras

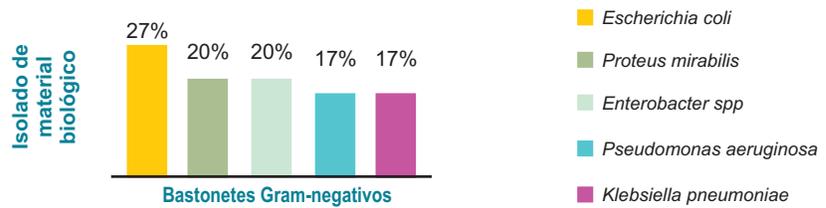


FIGURA 4: Percentual das espécies de bastonetes Gram-negativos isolados de material biológico de origem comunitária.

TABELA 1 - Distribuição das bactérias produtoras e não-produtoras de AmpC em diferentes materiais clínicos de origem comunitária.

Bactérias	Origem Comunitária									
	ESBL positiva					ESBL negativa				
	Urina		Secreção		Total	Urina		Secreção		Total
	n	%	n	%		n	%	n	%	
<i>Escherichia coli</i>	4	50	0	0	4	3	38	1	12	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	20	1	20	2	2	40	1	20	3
<i>Proteus mirabilis</i>	1	17	0	0	1	1	17	4	67	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	1	20	1	2	40	2	40	4
<i>Enterobacter spp</i>	0	0	0	0	0	2	33	4	67	6

TABELA 2 - Distribuição das bactérias produtoras e não-produtoras de AmpC em diferentes materiais clínicos de origem comunitária.

Bactérias	Origem Comunitária									
	AmpC positiva					AmpC negativa				
	Urina		Secreção		Total	Urina		Secreção		Total
	n	%	n	%		n	%	n	%	
<i>Escherichia coli</i>	2	25	0	0	2	5	64	1	13	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	20	1	20	2	2	40	1	20	3
<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	1	20	1	2	40	2	40	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	2	34	4	66	6
<i>Enterobacter spp</i>	0	0	0	0	0	2	33	4	67	6

TABELA 3 - Distribuição dos isolados bacterianos produtores de AmpC em diferentes materiais clínicos de origem hospitalar.

Bactérias	Origem Hospitalar									
	AmpC positiva					AmpC negativa				
	Urina		Secreção		Total	Urina		Secreção		Total
	n	%	n	%		n	%	n	%	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	1	14	1	1	17	5	83	6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	0	0	0	1	50	1	50	2
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	3	38	5	63	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	3	38	5	63	8
<i>Enterobacter spp</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	100	2
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0	0	0	0	0	0	0	5	100	5
<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	100	2

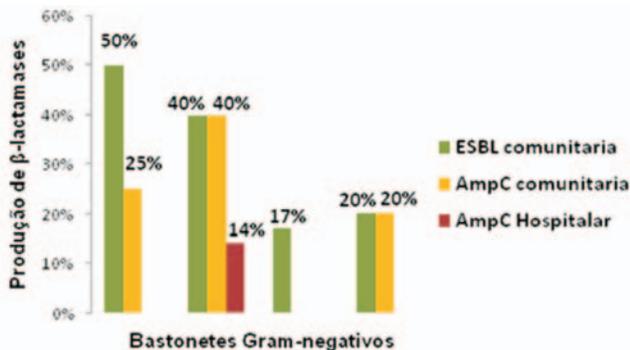


FIGURA 5: Comparativo da produção de β -lactamases no ambiente comunitário e hospitalar.

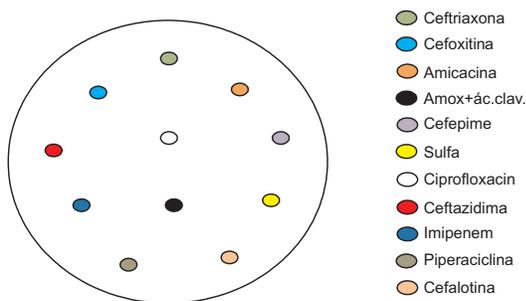


FIGURA 6: Demonstração da técnica para detecção de ESBL e AmpC em uma mesma placa.

de ESBLs³. Além disso, os organismos produtores de AmpC podem agir como reservatórios ocultos de ESBL, o que deve ser levado em conta pelos laboratórios clínicos e, assim, evitar relatórios falsos negativos de ESBL⁸.

Para evitar a interferência do fenótipo AmpC na expressão do fenótipo ESBL, o ideal seria que na rotina dos laboratórios ambos os testes fossem realizados em placas separadas ou os discos ficassem suficientemente separados a ponto de não interferirem na ação do outro, conforme Fig 6.

CONCLUSÕES

Identificar ESBL é um desafio que os laboratórios de todo o mundo enfrentam, porque os métodos para controlar a diminuição da susceptibilidade às cefalosporinas, às vezes não são suficientemente sensíveis para detectar a produção

de organismos produtores ESBL, especialmente em microrganismos diferentes de *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*.

A análise dos resultados obtidos no presente estudo permite reafirmar a importância da realização de estudos epidemiológicos locais com a finalidade de melhorar a detecção desses microrganismos multiresistentes. O emprego de técnicas laboratoriais padronizadas e eficazes para a detecção de amostras produtoras de ESBL e AmpC, assim como a vigilância epidemiológica constante quanto à prevalência de fenótipos multiresistentes desse microrganismo, associada a um controle rigoroso de utilização de antimicrobianos poderá inibir ou limitar o aparecimento de β -lactamases e evitar a perda gradativa de antibióticos potentes do arsenal terapêutico.

REFERÊNCIAS

- 1- ARAUJO FILHO, G. V. A.; Prevalência de bastonetes Gram-negativos produtores de β -lactamases dos tipos ESBL e AmpC. Trabalho Acadêmico Orientado. 2008.
- 2- FREITAS, A. L. P.; MACHADO, D. P.; SOARES, F. S. C.; BARTH, A. L. Extended-spectrum-lactamases in *Klebsiella* spp and *Escherichia coli* obtained in a Brazilian teaching hospital detection, prevalence and molecular typing. *Braz J Microbiol.*, 2003;34:344-348.
- 3- GNIADKOWSKI, M. Evaluation and epidemiology of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) and ESBL-producing organisms. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 7, p. 597-608, 2001.
- 4- HONORIO, L. C.; SANTOS I. B., ASSIS A. M. L., SANTOS, F. Análise do perfil de Resistência de enterobactérias produtoras de β -lactamases de espectro ampliado (ESBL) isoladas em João Pessoa-PB. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. n° 33, ano 4, p. 179-182, 2001.
- 5- KOLAR, M.; LATAL, T.; CERMARC, P.; BARTONIKOVA, N.; CHMELAROVA, E.; SAUDE, P.; KESSELOVA, M. Prevalence of extended-spectrum-lactamases-positive *Klebsiella pneumoniae* isolates in the Czech Republic. *Inter J Antimicrob Agents.*, 2006; 28:49-53.
- 6- LIVERMORE, D. M. Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiol Rev.* 1995 Oct;8(4):557-84.
- 7- MENDES, R. E. Caracterização dos elementos móveis responsáveis pela disseminação de genes associados à resistência bacteriana em *Pseudomonas* spp. isoladas na América Latina. 2005. Tese (doutorado) – Disciplina de Infectologia, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.
- 8- PITOUT, J. D. D.; REISBIG, M. D.; VENTER, E. C.; CHURCH, D. L.; HANSON, N. D. Modification of the double-disk test for detection of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum and AmpC β -lactamases. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 41, p. 3933-3935, 2003.
- 9- TONKIC, M.; BARISIC, I. G.; PUNDA-POLIC, V. Prevalence and antimicrobial resistance of extended-spectrum-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in a university hospital in Split, Croatia. *Internat. Microbiol.*, 2005, 8:119-124.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Daniela de Araújo Vilar
Rua Eng. Saturnino de Brito n° 850 apt. 003
Bairro: Catolé
Cep: 58410.875
CAMPINA GRANDE - PB
e-mail: dani_1011@yahoo.com.br

TEAC

Titulo de Especialista em Análises Clínicas

25 e 26 de junho de 2011

Curitiba-PR

Valorize a sua profissão. Divulgue o seu TEAC.

Prevalência de distúrbios da tireóide em pacientes climatéricas do Hospital Universitário Antônio Pedro*

Prevalence of thyroid disorders in climacteric patients of the University Hospital Antônio Pedro

Helene Nara Henriques¹, Maria Angélica Guzmán-Silva².

RESUMO - O objetivo deste estudo é determinar a prevalência de distúrbios da tireóide em pacientes climatéricas do Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP) no período de fevereiro a abril de 2008. Foi realizado estudo transversal, retrospectivo, com análise dos resultados de exames de TSH e T4 livre realizados em 105 pacientes no Laboratório de Hormônios e Drogas do Serviço de Patologia Clínica do HUAP. Na rotina laboratorial, as dosagens de TSH e T4 livre são realizadas diariamente, em uniplicata, com os kits comerciais da Diagnostics Products Corporation (DPC, Los Angeles, CA, USA) pelo método de quimioluminescência no Analisador Automatizado de Imunoensaios IMMULITE. A média etária das mulheres analisadas foi de 54±9 anos. Das 105 pacientes estudadas, 88% obtiveram resultados normais para os exames, 4% apresentavam resultados compatíveis com hipotireoidismo, 3% foram compatíveis com hipotireoidismo subclínico, 3% com hipertireoidismo e 2% com hipertireoidismo subclínico. Devido à ocorrência, mesmo que baixa, de hipotireoidismo e hipertireoidismo, tanto clínicos quanto subclínicos durante o climatério, faz-se necessária investigação mais aprofundada de tais desordens da tireóide, já que elas tendem a um aumento da prevalência com o avançar da idade e podem ocasionar outras patologias.

Palavras-chave: Distúrbios da tireóide, TSH, T4 livre, climatério.

SUMMARY - The purpose of this study is to determine the prevalence of thyroid disorders in climacteric patients of the University Hospital Antônio Pedro (HUAP) between February and April of 2008. A retrospective cross-sectional study was performed, analyzing the results of TSH and free T4 in 105 patients in the Laboratory of Hormones and Drugs of the Department of Clinical Pathology of HUAP. In the laboratory routine, the levels of TSH and T4 free are performed daily in uniplicata with commercial kits from Diagnostics Products Corporation (DPC, Los Angeles, CA, USA) using the chemiluminescence immunoassays in the Immulite Automated Analyzer. The average age of tested women was 54±9 years. Of 105 patients studied, 88% had normal results for the test, 4% had results consistent with hypothyroidism, 3% were consistent with subclinical hypothyroidism, 3% with hyperthyroidism and 2% with subclinical hyperthyroidism. Due to the occurrence of both clinical and subclinical hypothyroidism and hyperthyroidism during the climacterium, even being low, it is necessary to further investigate these thyroid disorders, since they tend to increase the prevalence with aging and can cause other diseases.

Keywords: Thyroid disorders, TSH, free T4, climacterium.

INTRODUÇÃO

O climatério é a fase da vida da mulher que se caracteriza pela transição entre o período reprodutivo e não reprodutivo^{1,3}, culminando com a menopausa^{1,3}, que é definida como a interrupção definitiva dos períodos menstruais^{3,4,5}.

No climatério, ocorre uma diminuição nos níveis de estrogênio e tal fato leva a uma série de sintomas^{2,3,6} que afetam cerca de 60 a 80 % das mulheres^{3,4}. Dentre os mais importantes, podem-se citar os sintomas vasomotores (fogachos)^{2,5-7}, sudorese^{5,6}, palpitações⁶, distúrbios menstruais, sintomas psicológicos^{1-3,7}, atrofia genito-urinária^{2,3,7}, ressecamento vaginal⁵ e distúrbios do sono⁷.

Estudos têm mostrado um aumento nos níveis de Hormônio Estimulante da Tireóide (TSH) em indivíduos de idade mais avançada, particularmente em mulheres na pós-menopausa⁸. Nota-se que a prevalência

de mulheres que desenvolvem hipotireoidismo no climatério é alta, por isso a investigação da patologia nessa fase está se tornando cada vez mais comum^{9,10}. De acordo com estudos, a prevalência de hipotireoidismo varia entre 2,4%⁸ a 17,9%¹⁰. O hipotireoidismo subclínico também é freqüente nessa etapa da vida, atingindo cerca de 23,2% das mulheres⁸.

Os métodos diagnósticos mais utilizados para avaliação da função tireoidiana são as dosagens de TSH, triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) total e livre¹¹.

Quando se suspeita de hipertireoidismo, o diagnóstico pode ser confirmado através da dosagem de TSH e T4 total ou livre¹². Os resultados encontrados são níveis elevados de tiroxina e níveis baixos de TSH^{12,13}. Se o nível de TSH estiver baixo e o nível de tiroxina estiver normal, pode-se fazer a dosagem de T3 para confirmar o diagnóstico¹².

O diagnóstico de hipotireoidismo por sua vez, é dado a partir de resultados baixos de T4 livre e elevados de TSH¹⁴.

Além do hipotireoidismo clássico, existem também casos de hipotireoidismo subclínico^{15,16}. Nestes casos, os testes

Recebido em 14/05/2009

Aprovado em 13/10/2010

¹Biomédica, pós-graduanda em Patologia, Mestrado em Patologia Investigativa, UFF, Niterói, RJ, Brasil.

²Professor Associado do Departamento de Patologia, UFF, Niterói, RJ, Brasil.

*Departamento de Patologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.

laboratoriais dos pacientes geram resultados de TSH elevados, porém as dosagens de T4 livre são normais^{14,15}.

A expectativa de vida das mulheres está cada vez maior e devido a isso, espera-se que elas passarão cerca de um terço de sua existência na fase de pós-menopausa. Assim, a preocupação com a saúde da mulher nesta etapa de sua vida é de suma importância¹.

O objetivo deste trabalho é mostrar a prevalência de distúrbios da tireóide em pacientes climatéricas do Hospital Universitário Antônio Pedro no período de fevereiro a abril de 2008.

MATERIAL E MÉTODOS

Por meio de estudo transversal, retrospectivo, com recuperação de dados, foram analisados os pedidos de exame e os resultados dos testes de TSH e T4 livre de 105 mulheres climatéricas atendidas no Setor de Ginecologia do Hospital Universitário Antonio Pedro (HUAP). Foram incluídas no estudo mulheres com quadros clínicos referidos pelo médico como climatério, menopausa e pós-menopausa.

Os resultados analisados foram obtidos das amostras da rotina do Laboratório de Hormônios e Drogas do Serviço de Patologia Clínica do HUAP, no período de fevereiro a abril de 2008. Na rotina laboratorial, as dosagens de TSH e T4 livre são realizadas diariamente, em uniplicata, com os kits comerciais da *Diagnostics Products Corporation* (DPC, Los Angeles, CA, USA) pelo método de quimioluminescência no Analisador Automatizado de Imunoensaios IMMULITE.

Para a análise dos resultados o valor de referência utilizado para as dosagens de TSH foi de 0,4 a 4 µIU/mL para valores normais, sendo considerado hipertireoidismo quando os valores obtidos estavam abaixo de 0,4 µIU/mL e hipotireoidismo quando os valores obtidos estavam acima de 4 µIU/mL.

Para a análise dos resultados o valor de referência utilizado para as dosagens de T4 livre foi de 0,8 a 1,9 ng/dL para valores normais, sendo considerado hipertireoidismo quando os valores obtidos estavam acima de 1,9 ng/dL e hipotireoidismo quando os valores obtidos estavam abaixo de 0,8 ng/dL.

Foram considerados casos de hipotireoidismo subclínico os exames com resultados elevados de TSH e normais de T4 livre. Foram considerados casos de hipertireoidismo subclínico os exames com resultados baixos de TSH e normais de T4 livre¹⁷.

RESULTADOS

O número de dosagens totais de TSH e T4 livre realizadas no laboratório, em cada mês analisado, são mostrados na tabela 1. O número de dosagens de TSH e T4 livre, realizados em ambos os sexos, correspondem a mais de 70% das dosagens totais realizadas no laboratório, que inclui outros hormônios e drogas.

Nos três meses estudados o número total de mulheres que realizaram exames de TSH e T4 livre no

Tabela 1 - Relação mensal entre dosagens totais e dosagens de TSH e T4 livre.

	Fev 2008	Mar 2008	Abr 2008
Dosagens Totais	539	673	728
Dosagens de TSH e T4L	387	520	537
Dosagens de TSH	387	520	537
Dosagens de T4L	333	456	479
% de Dosagens de TSH e T4L/Dosagens Totais	71,8	77,3	73,8
% de Dosagens de TSH/Dosagens Totais	71,8	77,3	73,8
% de Dosagens de T4L/Dosagens Totais	61,8	67,8	65,8

Tabela 2 - Distribuição mensal dos possíveis diagnósticos a partir dos resultados obtidos nas dosagens de TSH e T4 livre em 105 pacientes climatéricas

Diagnóstico	Fev	Mar	Abr	Total
Normal	26	25	42	93
Hipotireoidismo	1	2	1	4
Hipotireoidismo Subclínico	1	1	1	3
Hipertireoidismo	0	1	2	3
Hipertireoidismo Subclínico	0	0	2	2
Total	28	29	48	105

Laboratório de Hormônios e Drogas foi de 1163 pacientes. A média etária das mulheres analisadas foi de 54±9 anos com idade variando entre 31 e 78 anos. As mulheres com quadro clínico relatado pelos médicos como sendo climatério, menopausa ou pós-menopausa perfizeram 105 pacientes. Portanto, pacientes com os quadros clínicos de interesse corresponderam a 9% do total de exames de TSH e T4 livre.

A avaliação laboratorial mostrou que das 105 pacientes estudadas, 93 (88%) obtiveram resultados normais, quatro (4%) apresentavam resultados compatíveis com hipotireoidismo, três (3%) foram compatíveis com hipotireoidismo subclínico, três (3%) com hipertireoidismo e dois (2%) com hipertireoidismo subclínico. Os resultados correspondentes a cada mês estudado são mostrados na tabela 2.

DISCUSSÃO

A realização dos exames de TSH e T4 livre tem se tornado cada vez mais comum nesta fase da vida da mulher, já que tem se associado a ela o surgimento de hipotireoidismo^{9,10,18}. Porém, o que se pôde notar com os resultados obtidos foi uma prevalência mais baixa de hipotireoidismo na população estudada quando comparado com os dados da literatura. A maioria das pacientes verificadas no período estudado obteve resultados incluídos na faixa de normalidade para as dosagens de TSH e T4 livre (88%).

De acordo com pesquisa realizada em 2004 avaliando 168 mulheres climatéricas¹⁰, a prevalência de hipotireoidismo foi de 17,9%. Tal resultado encontra-se bem acima do encontrado no presente estudo. Entretanto, outro trabalho⁹, analisando 100 mulheres climatéricas, encontrou prevalência de 5% de hipotireoidismo, o que é bem semelhante aos resultados aqui encontrados. Da mesma forma, uma pesquisa realizada com

350 mulheres¹⁹ encontrou uma prevalência de 6% de hipotireoidismo.

Foi comprovado, entretanto, que entre o hipotireoidismo e o hipertireoidismo, o primeiro é ligeiramente mais freqüente nessa época da vida da mulher, como é sugerido por estudo em que a prevalência de hipertireoidismo encontrada foi de 5,1%, ou seja, menor do que aquelas encontradas para hipotireoidismo (6%)¹⁹. Na presente pesquisa, a prevalência de hipertireoidismo foi de 3%, portanto, menor do que aquela encontrada para hipotireoidismo (4%).

Com relação ao hipotireoidismo subclínico, foi verificada neste estudo uma prevalência de 3%. Tal resultado mostrou-se bem abaixo do encontrado na literatura. Um estudo efetuado em 320 mulheres²⁰ encontrou uma prevalência de 16,1%; outro estudo, composto por 210 mulheres²¹ também achou alta prevalência de hipotireoidismo subclínico (15,7%). Levando em consideração a população em geral, encontrou-se prevalência de 6%, sendo maior em mulheres e idosos²². Já em estudo com idosos, foi encontrada prevalência de 5 a 10% de hipotireoidismo subclínico, sendo este resultado também maior em mulheres²³.

O hipertireoidismo subclínico foi o distúrbio da tireóide com menor prevalência neste estudo (2%). De acordo com dados da literatura, em pesquisa efetuada em 25.862 americanos²⁴, sua prevalência na população geral foi de 2,1%. Em estudo com idosos, os casos de hipertireoidismo subclínico foram igualmente raros, acometendo menos de 2% da população estudada²³. Tais resultados se mostram compatíveis com os encontrados na presente investigação. Portanto, pode-se considerar que o aparecimento de hipertireoidismo subclínico na fase de climatério não é tão comum quanto os outros distúrbios já citados.

Pode-se justificar a discrepância de dados entre os diferentes estudos, pelas características diferenciadas dentro da população estudada, tais como idade, sexo, localização geográfica dos indivíduos, o critério diagnóstico utilizado e a sensibilidade do método de detecção dos hormônios. Ainda, o uso de medicamentos e a presença de doença tireoidiana prévia podem influenciar os resultados²⁴.

Estudos sugerem que o uso de estrogênio também pode influenciar, já que este hormônio pode levar a um aumento das concentrações séricas de T4 livre, o que causaria uma redução do número de casos de hipotireoidismo, enquanto aumentaria o número de casos classificados como hipotireoidismo subclínico²⁴.

Anormalidades na função da tireóide têm importantes consequências para a saúde. Em alguns estudos, níveis baixos de TSH, por exemplo, têm sido associados à diminuição da densidade óssea e aumento do risco de fibrilação atrial, além da possibilidade de progressão para hipertireoidismo clínico²³. O curso clínico, porém, é variável, podendo haver normalização do TSH em 50% dos casos, manutenção do quadro ou evolução para hipertireoidismo em 5% dos casos por ano²².

O hipotireoidismo, por sua vez, ocasiona aumento dos níveis séricos de colesterol²³. Outro estudo tem

demonstrado que o hipotireoidismo subclínico também parece exercer o mesmo efeito elevando a concentração de LDL-c²⁵. Além disso, é importante salientar que, cerca de 2 a 5% dos casos de hipotireoidismo subclínico evolui para hipotireoidismo clássico no primeiro ano²⁰.

CONCLUSÕES

Devido à ocorrência, mesmo que baixa, de hipotireoidismo e hipertireoidismo, tanto clínicos quanto subclínicos durante o climatério, faz-se necessária a investigação mais aprofundada de tais desordens da tireóide, já que elas tendem a um aumento da prevalência com o avançar da idade e podem ocasionar outras patologias.

AGRADECIMENTOS

Aos professores Sidney Gomes e Mary Lourdes Ribeiro pela ajuda oferecida no Laboratório de Hormônios e Drogas do HUAP.

REFERÊNCIAS

1. NIEVAS, A. F.; FUREGATO, A. R. F.; IANNETA, O. - Depressão no climatério: indicadores biopsicossociais. *J. Bras. Psiquiatr.*, 55(4): 274-9, 2006.
2. BERNI, N. I. O.; LUZ, M. H.; KOHLRAUSCH, S. C. - Conhecimento, percepções e assistência à saúde da mulher no climatério. *Rev. Bras. Enferm.*, 60(3): 299-06, 2007.
3. SILVEIRA, I. L.; PETRONILO, P. A.; SILVA, T. D. N. C.; DUARTE, J. M. B. P.; MARANHÃO, T. M. O.; AZEVEDO, G. D. - Prevalência de sintomas do climatério em mulheres dos meios rural e urbano no Rio Grande do Norte, Brasil. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, 29(8): 415-22, 2007.
4. PEDRO, A. O.; PINTO-NETO, A. M.; COSTA-PAIVA, H. S.; OSIS, M. J. D.; HARDY, E. E. - Síndrome do climatério: inquérito populacional domiciliar em Campinas, SP. *Rev. Saúde Pública*, 37(6): 735-42, 2003.
5. LOUTFY, I.; ABDEL AZIZ, F.; DABBOUS, N. I.; HASSAN, M. H. A. - Women's perception and experience of menopause: a community-based study in Alexandria, Egypt. *East. Mediterr. Health J.*, 12(2): S93-06, 2006.
6. MEDEIROS, S. F.; MEDEIROS, M. M. W. Y.; OLIVEIRA, V. N. - Climateric complaints among very low-income women from a tropical region of Brazil. *São Paulo Med. J.*, 124(4): 214-8, 2006.
7. FILHO, E. A. S. & COSTA, A. M. - Avaliação da qualidade de vida de mulheres no climatério atendidas em hospital-escola na cidade de Recife, Brasil. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, 30(3): 113-20, 2008.
8. SCHINDLER, A. E. - Thyroid function and postmenopause. *Gynecol. Endocrinol.*, 17(1): 79-85, 2003.
9. TAVARES, A. B. - Impacto do hipotireoidismo entre mulheres climatéricas. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, 21(9): 560, 1999.
10. FRANCO, V. A. - Prevalência de hipotireoidismo e características clínicas associadas à hipofunção tireoideana entre mulheres climatéricas. Um estudo de base hospitalar. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, 26(3): 323-27, 2004.
11. RAMOS, H. E.; ALBERTI, G. C.; HAUCK, P. R.; GRAF, H.; CARVALHO, G. A. - Interferência de anticorpos em testes de função tireoideana: relato de caso. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, 45(2): 199-01, 2001.
12. FRANKLYN, J. A. - The management of hyperthyroidism. *N. Engl. J. Med.*, 330(24): 1731-738, 1994.
13. ISOLAN-CURY, R. W.; SILVA, M. A. A.; MONTE, O.; CURY, A. N. - Caracterização vocal de pacientes com hipertireoidismo e hipotireoidismo. *Rev. Soc. Bras. Fonoaudiol.*, 22(2): 135-40, 2007.
14. TOPLISS, D. J. & EASTMAN, C. J. - Diagnosis and management of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Med. J. Aust.*, 180(4): 186-93, 2004.
15. COOPER, D. S. - Subclinical hypothyroidism. *N. Engl. J. Med.*, 345(4): 260-65, 2001.
16. STAUB, J. J.; ALTHAUS, B. U.; ENGLER, H.; RYFF, A. S.; TRABUCCO, P.; MARQUARDT, K. - Spectrum of subclinical and overt hypothyroidism: effect on thyrotropin, prolactin, and thyroid reserve, and metabolic impact on peripheral target tissues. *Am. J. Med.*, 92(6): 631-42, 1992.
17. ZAMRAZIL, V. - Subclinical thyroid diseases. *Vnitř. Lek.*, 53(7-8): 795-8, 2007.
18. HERNÁNDEZ VALENCIA, M.; CÓRDOVA PÉREZ, N.; ZÁRATE, A.; BASURTO, L.; MANUEL APOLINAR, L.; RUIZ, M.; *et al.* - Hypothyroidism associated to menopause symptoms worsening change with thyroid substitution therapy. *Ginecol. Obstet. Mex.*, 76(10): 571-5, 2008.
19. BADAWY, A.; STATE, O.; SHERIEF, S. - Can thyroid dysfunction explicate severe menopausal symptoms? *J. Obstet. Gynaecol.*, 27(5): 503-5, 2007.
20. NAHAS, E. A. P.; NAHAS-NETO, J.; SANTOS, E. M. F.; MAZETO, G. M. F. S.; DALBEN, I.; PONTES, A. - Prevalência do hipotireoidismo subclínico e repercussões sobre o perfil lipídico e

massa óssea em mulheres na pós-menopausa. Rev. Bras. Ginecol. Obstet., 27(8): 467-72, 2005.

21. NAGATA, M.; SUZUKI, A.; SEKIGUCHI, S.; ONO, Y.; NISHIWAKI-YASUDA, K.; ITOI, T.; - Subclinical hypothyroidism is related to lower heel QUS in postmenopausal women. Endocr. J., 54(4): 625-30, 2007.

22. WIERSINGA, W. M. - Subclinical hypothyroidism and hyperthyroidism. I. Prevalence and clinical relevance. Neth. J. Med., 46(4): 197-04, 1995.

23. SAMUELS, M.H. - Subclinical thyroid disease in the elderly. Thyroid., 8(9): 803-13, 1998.

24. CANARIS, G. J.; MANOWITZ, N. R.; MAYOR, G.; RIDGWAY, C. - The Colorado thyroid disease prevalence study. Arch. Intern. Med., 160: 526-34, 2000.

25. AREM, R.; ESCALANTE, D. A.; AREM, N.; MORRISETT, J. D.; PATSCH, W. - Effect of L-thyroxine therapy on lipoprotein fractions in overtand subclinical hypothyroidism, with special reference to a lipoprotein(a). Metabolism, 44(12): 1559-63, 1995.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Helene Nara Henriques
Avenida Visconde do Rio Branco, 755, apto 107
São Domingos, Niterói – RJ
CEP 24020-006
Fone (21)2629-9044; fax (21)2629-9128
E-mail: helenebiomed@yahoo.com.br

ProIN

Programa de Controle Interno da Qualidade

© asterisco.pqc.br

O PNCQ fornece soro humano liofilizado para o controle interno em seu Laboratório.

O Programa Nacional de Controle de Qualidade – PNCQ, com o objetivo de auxiliar o Laboratório Participante e os demais na implantação e execução do Controle Interno da Qualidade, fornece soro humano liofilizado para o controle interno em:

- › Bioquímica
- › Urinálise
- › Coagulação
- › Drogas Terapêuticas
- › Espectrofotometria
- › Imunologia
- › Marcadores Cardíacos
- › Marcadores Tumorais
- › Hormônios
- › Gasometria

Diminua os custos de implantação e realização do Controle Interno da Qualidade em seu laboratório.

O PNCQ disponibiliza uma tabela de valores médios obtidos por consenso dos resultados dos Laboratórios Participantes destes soros controle.



A produção das amostras-contrôle é feita em estrutura própria do PNCQ.



Rua Vicente Licínio, nº 193 - Tijuca - Rio de Janeiro
RJ | CEP: 20270-340 | Tel/Fax: 55 (0XX21) 2569-6867
Email: pncq@pncq.org.br | Site: www.pncq.org.br



PNCQ
Programa Nacional
de Controle de Qualidade

Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

Estudo da estabilidade da Acetilcolinesterase pelo Método de Ellman*

Study of the stability of acetylcholinesterase by the method of Ellman

Carla Brugin Marek, Ana Maria Itinose e Gisele Neumann Zanella¹

RESUMO - A determinação da atividade da acetilcolinesterase, enzima presente principalmente nas hemácias e fundamental na transmissão dos impulsos nervosos, tem grande significado para o diagnóstico e acompanhamento das intoxicações por carbamatos e organofosforados. Em laboratórios de toxicologia é prática comum a determinação enzimática da acetilcolinesterase. A sua atividade, quando diminuída, pode ser um indicativo da exposição a estes grupos de praguicidas. Entretanto, se as condições de armazenamento do sangue não forem corretas, pode haver um decréscimo na atividade desta enzima levando a resultados errôneos. Assim, pelo método cinético de Ellman, foi verificada a estabilidade da atividade da acetilcolinesterase em diferentes formas de armazenamento: sangue total, hemolisado e botão de hemácias mantidos sob refrigeração (4°C) e congelamento (-20°C). Os resultados mostraram o congelamento do hemolisado como a melhor forma de manter a estabilidade enzimática, não podendo ultrapassar 7 dias. Após este período ocorre um decréscimo significativo. As demais formas não apresentaram diferenças significativas entre si, apresentando um tempo máximo de estabilidade de 4 dias.

Palavras-chave: Acetilcolinesterase, praguicidas, toxicologia.

SUMMARY - The determination of the activity of the acetylcholinesterase, enzyme present mainly in the erythrocytes and fundamental in the transmission of the nervous pulses, has great meaning for the diagnosis and attendance of the intoxications for carbamate and organophosphorus pesticides. In toxicology laboratories it is practical common to enzymatic determination of the acetylcholinesterase. The activity, when decreased, can be an indicative of the exposure to pesticides. However, if the conditions of storage of the blood are not correct, can have a decrease in the activity taking to erroneous results. Like this, through the kinetic method of Ellman, the stability of the activity of the acetylcholinesterase was verified in different storage forms, total blood, haemolysate and erythrocytes button maintained under cooling (4°C) and freezing (-20°C). The results showed the freezing of the haemolysate as the best form of maintaining the enzymatic stability, not could pass 7 days. After this period it happens significant decrease. The other forms didn't present significant differences amongst themselves, presenting a maximum time of stability of 4 days.

Keywords: acetylcholinesterase, pesticides, toxicology.

INTRODUÇÃO

A transmissão sináptica ocorre pela ação da acetilcolina nos seus receptores. Esta ação é regulada pela acetilcolinesterase, enzima capaz de hidrolizar rapidamente o neurotransmissor, mantendo assim o controle da transmissão colinérgica^{6,19}. Duas enzimas podem hidrolizar a acetilcolina: a colinesterase verdadeira ou acetilcolinesterase (AChE; E.C. 3.1.1.7) e a pseudo-colinesterase ou butirilcolinesterase (BChE; E.C. 3.1.1.8). AChE está relacionada na transmissão do sinal na junção neuromuscular, estando altamente expressa no sistema nervoso central humano e membrana eritrocitária^{16,22}. A BChE é uma enzima plasmática, produzida no fígado, sendo encontrada também nos músculos e cérebro^{11,16,22}. A interação entre a acetilcolinesterase e a acetilcolina é complexa, envolvendo a ligação do substrato no sítio catalítico assim como uma segunda ligação no sítio aniônico¹⁵. A eficiência da hidrólise da acetilcolina depende de vários fatores, dentre eles a localização, o número e densidade da enzima nos sítios sinápticos¹⁹. A inibição da

acetilcolinesterase reflete em uma hiperestimulação nos receptores colinérgicos no sistema nervoso autônomo, junção neuromuscular e sistema nervoso central, acarretando em uma resposta colinérgica exacerbada^{8,9}.

Algumas substâncias, dentre elas os organofosforados (OF) e carbamatos, têm a propriedade de inibir a atividade da acetilcolinesterase, sendo, inclusive, correlacionados com distúrbios neurológicos como Parkinson^{4,12}. Entretanto, a utilidade em medir a atividade catalítica da AChE, ainda se encontra nos casos de exposição, particularmente, à organofosforados e, em alguns casos, à carbamatos^{1,5,24}. A avaliação da sua atividade pode auxiliar na interpretação clínica de uma exposição crônica à OF, mostrando uma exposição anterior a 120 dias. O mesmo não acontece com a BChE que mostra exposição recente, não apresentando valor clínico como bioindicador¹³.

Vários métodos são descritos para medir a atividade da AChE e BChE. Para a AChE utiliza-se sangue total e para BChE, plasma^{2,7,10,14,18,21}. Os métodos preferenciais são aqueles que atendam, entre outras exigências, às menores fontes de erro inerente a preparação e processamento das amostras. Quando se trata de determinações enzimáticas, somam-se

Recebido em 09/06/2009

Aprovado em 30/11/2010

1 - Toxicologia -

*Laboratório de Toxicologia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 858120-020 Cascavel, Brasil.

fatores referentes à estabilidade da amostra, visto que as enzimas são estritamente sensíveis a mudanças de temperatura e pH²³. Cuidados no acondicionamento, transporte e armazenamento da amostra também devem ser considerados para minimizar possíveis problemas, pois a hemólise antecipada pode contribuir para possíveis erros. Desta forma, o presente estudo teve o objetivo de verificar a estabilidade da atividade da AChE em diferentes formas de armazenamento: sangue total refrigerado (4°C), hemolisado e botão de hemácias mantidos sob refrigeração (4°C) ou congelamento (-20°C).

MATERIAL E MÉTODOS

Todo o estudo foi realizado no laboratório de Toxicologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). Os substratos foram adquiridos da Sigma Chemical Co e os demais reagentes apresentavam grau de pureza entre 98-99,8%. A determinação da atividade da acetilcolinesterase foi realizada pelo método de Ellman¹⁰, método já padronizado e utilizado em outros estudos pelos autores.

A amostra de sangue heparinizado foi obtida por punção venosa de um indivíduo do sexo masculino, clinicamente saudável e sem história pregressa de exposição a OF ou a carbamato. A linha de base para a acetilcolinesterase foi determinada imediatamente após a coleta da amostra. Para a estabilidade da atividade enzimática, a amostra foi armazenada nas formas de sangue total, hemolisado e botão de hemácias, mantidos sob refrigeração (4°C) e congelamento (-20°C). A amostra foi dividida em alíquotas, correspondendo ao 1º, 2º, 3º, 5º, 7º, 10º, 15º, 20º, 25º e 30º dia de armazenamento.

(a) Armazenamento na forma de sangue total – o sangue total foi homogeneizado durante 5 minutos, separado em 10 alíquotas e armazenado sob refrigeração. Para a determinação da atividade enzimática seria necessário fazer a lavagem das hemácias, 3 vezes, com solução salina 0,9% a partir das respectivas alíquotas e hemolisá-las com água destilada (1:10).

(b) Armazenamento na forma de hemolisado – o sangue total foi separado em 20 alíquotas. As hemácias foram lavadas com solução salina 0,9% e hemolisadas (1:10) com água destilada. Cada alíquota de hemolisado foi armazenada sob refrigeração e congelamento. Para a determinação da atividade da acetilcolinesterase, nos respectivos dias, deixava-se o hemolisado atingir a temperatura ambiente.

© Armazenamento na forma de botão de hemácias – o sangue total foi separado em 20 alíquotas. As hemácias foram lavadas 3 vezes com solução salina 0,9%, na última lavagem foi retirado todo o sobrenadante, deixando-se apenas o precipitado de hemácias, denominado de botão de hemácias. Os botões de hemácias foram, então, armazenados sob refrigeração e congelamento. Para a determinação enzimática seria necessário hemolisar o sangue (1:10) com água destilada.

Para o estudo utilizou-se uma linha de base, compreendida na medida da atividade da AChE imediatamente após a coleta da amostra. Este valor foi utilizado como referência para a comparação dos resultados encontrados nos diferentes dias e formas de armazenamento. Foram realizadas, no mínimo, 15 determinações para cada tipo de estudo.

RESULTADOS

Os resultados estão apresentados como a média das determinações seguida pelo seu desvio padrão. O valor da linha de base para acetilcolinesterase encontrado foi de 3.351 U/L (121 U/L), dentro do valor de referência para o método utilizado, 2.800 U/L e 4.100 U/L.

Os valores de acetilcolinesterase obtidos após o armazenamento na forma de sangue total refrigerado estão mostrados na tabela 1. A amostra apresentou variação não representativa na atividade até 72 horas; após este período tornou-se imprópria para a utilização devido à hemólise apresentada.

Tabela 1 - Estabilidade da atividade da AChE no sangue total refrigerado

Alíquotas	Atividade da acetilcolinesterase (U/L)
Valor basal	3.351 (± 121)
24 horas	3.375 (± 121)
48 horas	3.070 (± 113)
72 horas	3.117 (± 124)

A tabela 2 mostra as atividades da AChE para o hemolisado nas formas refrigerada e congelada. Assim como o sangue total refrigerado, estas duas formas apresentaram variabilidade até 72 horas. Observou-se, também, que após o 5º dia houve decréscimo significativo na atividade em ambas formas de estocagem.

Tabela 2 - Estabilidade da atividade da AChE nos hemolisados refrigerados e congelados

Alíquotas	Atividade da acetilcolinesterase (U/L)	
	Hemolisado refrigerado	Hemolisado congelado
Valor basal	3.351 (±121)	3.351 (±121)
24 horas	3.390 (±113)	3.429 (±99)
48 horas	2.650 (±99)	2.884 (±121)
72 horas	3.039 (±99)	3.312 (±124)
5º dia	2.521 (±113)	2.962 (±121)
7º dia	2.455 (±113)	2.884 (±121)
10º dia	2.221 (±113)	2.494 (±121)
15º dia	1.793 (±121)	2.455 (±113)
20º dia	1.719 (±121)	2.182 (±121)
25º dia	1.637 (±99)	2.104 (±121)
30º dia	1.481 (±99)	1.832 (±113)

Em relação ao botão de hemácias, as formas refrigeradas e congeladas apresentaram praticamente o mesmo comportamento, com variações até o 5º dia e tendência na diminuição da atividade após este período. A partir do 5º dia todos os valores encontrados estavam abaixo dos valores de referência, conforme a tabela 3.

Tabela 3 - Estabilidade da atividade da AChE nos botões de hemácias refrigerados e congelados

Alíquotas	Atividade da acetilcolinesterase (U/L)	
	Botão de hemácias refrigerado	Botão de hemácias congelado
Valor basal	3.351 (\pm 121)	3.351 (\pm 121)
24 horas	3.445 (\pm 74)	3.385 (\pm 124)
48 horas	3.117 (\pm 124)	2.610 (\pm 99)
72 horas	3.140 (\pm 121)	3.048 (\pm 124)
5º dia	2.812 (\pm 99)	2.778 (\pm 113)
7º dia	2.671 (\pm 113)	2.408 (\pm 121)
10º dia	2.600 (\pm 113)	2.273 (\pm 99)
15º dia	2.389 (\pm 121)	2.239 (\pm 74)
20º dia	2.295 (\pm 99)	2.172 (\pm 74)
25º dia	1.967 (\pm 121)	1.936 (\pm 99)
30º dia	1.732 (\pm 121)	1.666 (\pm 121)

DISCUSSÃO

O estudo do armazenamento nas formas propostas sugere o congelamento do hemolisado como a melhor forma para manter a estabilidade enzimática por períodos de armazenamento longos. A estabilidade, nestas condições, é mantida dentro dos valores de referência, no máximo, por 7 dias. Após este período ocorre um decréscimo significativo, com os valores da atividade catalítica abaixo do valor de referência. O sangue total refrigerado pode ser utilizado até 72 horas após a coleta. Depois deste tempo, a probabilidade de hemólise impossibilita a separação do plasma, inviabilizando a utilização da amostra.

Apesar da literatura não citar referências quanto a utilização do botão de hemácias, testou-se esta forma buscando uma possível opção a mais de armazenamento. Embora o botão de hemácias apresente o mesmo comportamento tanto na refrigeração quanto no congelamento, sua maior estabilidade é refrigerado. O tempo e a variabilidade da estabilidade comparam-se ao do sangue total refrigerado.

Independente das formas de armazenamento, os valores da atividade da AChE apresentam oscilações mesmo dentro da faixa de referência. A lavagem das hemáceas e o preparo do hemolisado podem ser considerados fontes de erro^{17,21} e, acredita-se que contribuíram sensivelmente para as variações encontradas. Outro fator a ser considerado é que mesmo com a lavagem das hemácias para a redução de outros constituintes celulares e de resíduos de proteínas, existe a possibilidade da permanência destes, incluindo ainda

a possível presença de aproximadamente 12,5% de BuChE na fração eritrocitária²; além de se tratar de uma metodologia estritamente manual.

Quando se trata da interpretação da atividade da AChE, o principal problema é distinguir se a diminuição da atividade catalítica está relacionada somente à exposição ao OF, ou se condições analíticas, fisiológicas ou patológicas estão associadas^{3,8}. O laboratório deve evitar as possibilidades de interferência. O estabelecimento da linha de base, quando possível, é um meio de criar um parâmetro para auxiliar na interpretação, já que existem variações intra e interindividuais para a atividade da AChE²⁰. Outra forma seria a minimização dos pontos críticos do processo analítico, como a lavagem das hemácias e o armazenamento, entre outros.

REFERÊNCIAS

1. Anwar, W. A. - Biomarkers of human exposure to pesticides. *Environmental Health Perspectives*, 105(4):801-806, 1997.
2. Bellino, M.; Ficarra, M.; Frontali, N.; Ghezzi, F.; Guarcini, A. M.; Orecchio, F.; Serpietri, L. A. & Traina, M. E. - A quick and simple method for the routine determination of acetyl- and butyrylcholinesterase in blood. *British Journal of Industrial Medicine*, 35(2):161-167, 1978.
3. Brock, A. - Inter and intraindividual variations in plasma cholinesterase activity and substance concentration in employees of an organophosphorus insecticide factory. *British Journal of Industrial Medicine*, 48(8):562-567, 1991.
4. Brown, T. P.; Rumsby, P. C.; Capleton, A. C.; Rushton, L. & Leonard, S. L. - Pesticides and Parkinson's disease - is there a link? *Environmental Health Perspectives*, 114(2):156-174, 2006.
5. Ciesielski, S.; Loomis, D. P.; Mims, S. R. & Auer, A. - Pesticide exposure, cholinesterase depression, and symptoms among North Carolina migrant farmworkers. *American Journal of Public Health*, 84(3):446-451, 1994.
6. Colletier, J.-P.; Fournier, D.; Greenblatt, H. M.; Stojan, J.; Sussman, J. L.; Zaccai, G.; Silman, I. & Weik, M. - Structural insights into substrate traffic and inhibition in acetylcholinesterase. *European Molecular Biology Organization*, 25:2746-2756, 2006.
7. Coye, M. J.; Lowe, J. A. & Maddy, K. T. - Biological monitoring of agricultural workers exposed to pesticides: I. cholinesterase activity determinations. *Journal of Occupational Medicine*, 28:619-636, 1986.
8. Del Prado-Lu, J. L. - Pesticide exposure, risk factors and health problems among cutflower farmers: a cross sectional study. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 2:9 doi:10.1186/1745-6673-2-9, 2007.
9. Eddleston, M.; Eyer, P.; Worek, F.; Mohamed, F.; Senarathna, L.; von Meyer, L.; Juszcak, E.; Hittarage, A.; Azhar, S.; Dissanayake, W.; Sheriff, M. H. R.; Szinicz, L.; Dawson, A. H. & Buckley, N. A. - Differences between organophosphorus insecticides in human self-poisoning: a prospective cohort study. *Lancet*, 366(9495):1452-1459, 2005.
10. Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres Jr, V. & Featherstone, R. M. - A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7:88-95, 1961.
11. Greig, N. H.; Utsuki, T.; Ingram, D. K.; Wang, Y.; Pepeu, G.; Scali, C.; Yu, Q.-S.; Mamczarz, J.; Holloway, H. W.; Giordano, T.; Chen, D.; Furukawa, K.; Sambamurti, K.; Brossi, A. & Lahiri, D. K. - Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer β -amyloid peptide in rodent. *Pharmacology*, 102(47):17213-17218, 2005.
12. Hancock, D. B.; Martin, E. R.; Mayhew, G. M.; Stajich, J. M.; Jewett, R.; Stacy, M. A.; Scott, B. L.; Vance, J. M. & Scott, W. K. - Pesticide exposure and risk of Parkinson's disease: a family-based case-control study. *Neurology*, 8:6 doi:10.1186/1471-2377-8-6, 2008.
13. Kamel, F. & Hoppin, J. A. - Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. *Environmental Health Perspectives*, 112(9):950-958, 2004.
14. Kangas, J. & Jauhiainen, A. - Determination of cholinesterase activity. *African Newsletter on Occupational Health and Safety*, 2:56-58, 1991.
15. Kaushik, R.; Rosenfeld, C. A. & Sultatos, L. G. - Concentration-dependent interactions of the organophosphates recombinant acetylcholinesterase. *Toxicology Applied Pharmacology*, 221(2):243-250, 2007.
16. Lapidot-Lifson, Y.; Prody, C. A.; Ginzberg, D.; Meytes, D.; Zakut, H. & Soreq, H. - Coamplification of human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase genes in blood cells: correlation with various leukemias and abnormal megakaryocytopoiesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 86:4715-4719, 1989.
17. London, L.; Thompson, M. L.; Sacks, S.; Fuller, B.; Bachmann, O. M. & Myers, J. E. - Repeatability and validity of a field kit for estimation of cholinesterase in whole blood. *Occupational and Environmental Medicine*, 52(1):57-64, 1995.
18. Magnotti Jr, R. A.; Dowling, K.; Eberly, J. P. & McConnell, R. S. - Field measurement of plasma and erythrocyte cholinesterases. *Clinica Chimica Acta*, 176:315-332, 1988.
19. Martinez-Pena, I.; Akaaboune, V. & Akaaboune, M. - Acetylcholinesterase mobility and stability at the neuromuscular junction of living mice. *Molecular Biology of the Cell*, 18:2904-2911, 2007.

20. McCauley, L. A.; Anger, W. K.; Keifer, M.; Langley, R.; Robson, M. G. & Rohlman, D. - Studying health outcomes in farmworker populations exposed to pesticides. *Environmental Health Perspectives*, 114(6):953-960, 2006.

21. McConnell, R. & Magnotti, R. - Screening for insecticide overexposure under fields conditions: a reevaluation of the tintonmetric cholinesterase kit. *American Journal of Public Health*, 84(3):479-481, 1994.

22. Minic, J.; Chatonnet, A.; Krejci, E. & Molgó, J. - Butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase activity and quantal transmitter release at normal and acetylcholinesterase knockout mouse neuromuscular junctions. *British Journal of Pharmacology*, 138(1):177-187, 2003.

23. Nelson, D. L. & Cox, M. M. - *Lehninger principles of biochemistry*, Fourth Edition, New York, 2006, 1119 p.

24. Ryan, P. B.; Burke, T. A.; Hubal, E. A. C.; Cura, J. J. & McKone, T. E. - Using biomarkers to inform cumulative risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, 115(5): 833-840, 2007.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Carla Brugin Marek

Laboratório de Toxicologia/Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

R. Universitária, 2064 – Jardim Universitário

CEP 85812-020 Cascavel – Paraná

Faça um download
de nossa Sala de Aula...



Onde qualquer lugar
é a sua sala de aula!

Participe!

www.sbac.org.br/ead

ead@sbac.org.br

...e acesse cursos e eventos
de qualquer local!

Ácidos nucleicos circulantes no sangue como biomarcadores de câncer gástrico

Circulating nucleic acids in blood as biomarkers of gastric cancer

Natália Fontana Nicoletti¹, Ivana Grivicich¹, Daniel Simon¹

RESUMO - A utilização de métodos diagnósticos baseados na detecção de moléculas de DNA e RNA extracelulares é tema de diversos estudos atuais. Ácidos nucleicos circulantes são detectados em pequenas quantidades no plasma e no soro de indivíduos saudáveis. Entretanto, níveis elevados de DNA ou RNA têm sido observados no sangue de pacientes com diversas patologias. Pesquisas relacionadas à validação destas moléculas para o diagnóstico de doenças direcionam-se principalmente ao câncer. Esta tendência relaciona-se, sobretudo, à necessidade de procedimentos invasivos para estabelecimento do diagnóstico e do prognóstico em pacientes com câncer, enquanto que a determinação dos ácidos nucleicos circulantes é um procedimento não-invasivo e de fácil acesso. Entre as diferentes neoplasias, o câncer gástrico tem sido foco de pesquisas que buscam identificar DNA e RNA circulantes e relacioná-los aos possíveis desfechos da doença. Este artigo revisa as aplicações de detecção e quantificação de ácidos nucleicos circulantes no diagnóstico e prognóstico de pacientes com câncer gástrico.

Palavras-chave: Ácidos nucleicos circulantes, câncer gástrico, DNA, RNA.

SUMMARY - The potential use of diagnostic methods based on detection of extracellular molecules of DNA and RNA is current issue of several studies. Circulating nucleic acids are detected in small amounts in the plasma and serum of healthy subjects. However, high levels of DNA or RNA have been observed in the blood of patients with various diseases. Studies related to the validation of these molecules for diagnosis of diseases are mainly directed to cancer. This trend is especially related to the need of invasive procedures for establishing the diagnosis and prognosis in cancer patients, while the determination of circulating nucleic acids is characterized as a non-invasive and feasible method. Among the distinct neoplasms, gastric cancer has been focused in different researches that aim cell free DNA and RNA identification and linking them to several end points of the disease. This paper reviews the applications of circulating nucleic acids detection and quantification in the diagnosis and prognosis of gastric cancer patients.

Keywords: Circulating nucleic acids, DNA, gastric cancer, RNA.

INTRODUÇÃO

A incidência e a mortalidade por câncer gástrico têm diminuído drasticamente durante os últimos 70 anos. Apesar desta queda significativa, esta neoplasia é a quarta mais comum entre todos os tipos de câncer, bem como a segunda maior causa de morte por câncer no mundo¹. A doença afeta principalmente o sexo masculino, podendo atingir uma incidência de 5:1 em comparação com as mulheres, além de ser duas vezes mais comum em caucasianos do que em negros¹. Quase dois terços dos casos de câncer gástrico ocorrem em países em desenvolvimento. Apesar disto, Japão e Coreia são responsáveis pelas mais altas taxas de incidências mundiais desta neoplasia¹. No Brasil, cerca de 65% dos pacientes diagnosticados com câncer gástrico possuem mais de 50 anos, com pico de incidência aos 70 anos de idade². O câncer gástrico inicial caracteriza-se como uma lesão pequena e assintomática, e a elevada mortalidade relacionada à doença justifica-se pela ocorrência tardia dos sintomas¹.

A biologia molecular tem aumentado o conhecimento sobre a oncogênese e a progressão de células tumorais. Atualmente existe um esforço crescente para o desenvolvimento e o aprimoramento de métodos diagnósticos baseados na detecção de moléculas de

DNA e RNA extracelulares no plasma, no soro, na urina e em outros fluidos corporais humanos³.

O diagnóstico de pacientes oncológicos baseia-se em diversos exames convencionais da prática clínica. No que se refere ao câncer gástrico, endoscopia digestiva alta, ultrasonografia, ultra-som endoscópico, tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM) são utilizados no diagnóstico dos pacientes⁴. Marcadores tumorais séricos, como o antígeno carcinoembrionário (CEA) e o antígeno carboidrato (CA) 19-9, possuem valor diagnóstico para câncer gástrico, apesar de apresentarem sensibilidade e especificidade insuficientes para sua detecção precoce⁵. Neste contexto, os exames de imagem apresentam elevado valor diagnóstico no câncer de estômago, à medida que a triagem laboratorial para esta neoplasia é limitada. Frente a isto, os ácidos nucleicos circulantes surgem como uma ferramenta adicional na detecção precoce do câncer gástrico. A partir de uma revisão da literatura, este trabalho objetiva estabelecer a importância do DNA e do RNA extracelulares na detecção e no prognóstico do câncer gástrico.

HISTÓRICO

A presença de ácidos nucleicos extracelulares na circulação sanguínea foi inicialmente descrita por Mandel e Métais, em 1948⁶. Apesar do caráter inovador, pouco

Recebido em 03/06/2009

Aprovado em 27/09/2010

¹Programa de Pós-Graduação em Diagnóstico Genético e Molecular da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA)

reconhecimento foi atribuído ao estudo, até que em 1966 demonstrou-se a presença de DNA circulante em pacientes acometidos por lúpus eritematoso sistêmico⁷. Visto que moléculas de DNA foram identificadas na circulação de pacientes com outras patologias como hepatite, artrite reumatóide e tuberculose miliar, propôs-se que o DNA sérico seria originado a partir de lesão tecidual⁸.

A utilidade dos ácidos nucléicos circulantes no diagnóstico e no prognóstico oncológicos foi inicialmente demonstrada em 1977, quando altos níveis de DNA foram detectados no soro de pacientes com câncer e mostraram-se diminuídos nos indivíduos que responderam favoravelmente à radioterapia⁹. Com a realização de diversos estudos subsequentes que confirmaram a presença de DNA circulante no plasma de pacientes oncológicos, comprovou-se a utilidade da sua mensuração como diagnóstico e fator prognóstico para o câncer¹⁰⁻¹². Além disto, descobertas recentes envolvendo RNA circulante derivado de tumores abriram novos caminhos para o diagnóstico e monitoramento não invasivo das neoplasias malignas³.

DNA CIRCULANTE E CÂNCER GÁSTRICO

A maior parte do DNA eucarioto localiza-se no interior do núcleo, que constitui cerca de 10% do volume celular total. A presença de DNA extracelular na circulação sanguínea pode ser originada por necrose ou por apoptose a partir de elementos nucleares das células sanguíneas ou endoteliais¹³. O DNA circulante proveniente da apoptose apresenta-se principalmente sob a forma de mononucleossomos, nucleoproteínas que fazem parte da cromatina e, no sangue, protegem o DNA contra a degradação⁸. Alguns trabalhos demonstraram que a quantificação de nucleossomos circulantes pode ser comparável à mensuração de DNA livre no plasma ou no soro. Desta forma, a determinação dos níveis de nucleossomos gerados por apoptose de células tumorais pode ser indicativa da gravidade da neoplasia^{13,14}. A necrose também pode ser considerada como fator originário de DNA extracelular no câncer, sendo possível diferenciar os dois modelos de morte celular, já que a apoptose gera fragmentos de DNA com 180 a 200 pares de bases, enquanto a necrose resulta em fragmentos maiores e desordenados¹³.

Estudos relacionados à validade do DNA circulante para diagnóstico de doenças direcionam-se principalmente ao câncer. Esta tendência relaciona-se, sobretudo, à necessidade de procedimentos invasivos para estabelecimento do diagnóstico e prognóstico, enquanto que a determinação do DNA circulante caracteriza-se como um procedimento não-invasivo e de fácil acesso⁸. As primeiras determinações dos níveis normais de DNA circulante em indivíduos saudáveis foram estabelecidas entre 0–100 ng/ml no plasma ou soro, com média de 30 ng/ml. Mais recentemente, determinou-se como valor limítrofe de DNA circulante no plasma em indivíduos saudáveis 60 ng/ml¹⁵. Em estudos com pacientes oncológicos, a concentração de DNA livre no plasma ou no soro variou de 0 a mais de 1.000 ng/ml

de sangue, com média de 180 ng/ml^{16,17}. Indivíduos com câncer do trato gastrointestinal demonstraram uma média de 412 ng/ml de DNA circulante no soro, enquanto que para aqueles com tumor benigno do trato gastrointestinal a média foi de 118 ng/ml¹⁶. Foram observadas concentrações de DNA livre no plasma significativamente maiores em pacientes com câncer gástrico quando comparados aos controles saudáveis, mas com relação à integridade do DNA no plasma não foi encontrada diferença significativa¹². Deve-se ressaltar, contudo, que existem diferenças metodológicas no que diz respeito à mensuração do DNA no soro ou no plasma. Os níveis absolutos de DNA livre encontrados em estudos que utilizaram o plasma foram, em geral, inferiores àqueles que utilizaram o soro¹⁸.

Diversos estudos procuraram associar a detecção de tumores com alterações genéticas presentes no DNA circulante¹⁹. Nestes estudos, o diagnóstico de câncer baseia-se na análise do DNA extracelular e incluiu a detecção de mutações em oncogenes e em genes supressores tumorais, bem como em mudanças no perfil de metilação dos genes, presença de instabilidade de microssatélites e perda de heterozigossidade. A descoberta de tais mutações no plasma ou soro de pacientes oncológicos fornece uma evidência sólida da liberação de ácidos nucléicos na circulação por células tumorais¹⁹.

Os primeiros relatos que descreveram mutações associadas ao câncer no DNA circulante envolveram membros da família do oncogene *ras*^{11,20}. O produto do gene *K-ras* ativado é responsável pela transmissão de um sinal de proliferação ao receptor celular. Estudos com o gene *ras* mutante foram realizados em câncer gastrointestinal, onde alterações deste oncogene são predominantes. Mutações do proto-oncogene *K-ras* no plasma foram sugeridas como um potencial marcador para determinação de risco no desenvolvimento de neoplasias malignas, assim como para detecção precoce da patologia, pois as mutações encontradas no plasma correspondem àquelas do tumor primário^{11,21}. Hayashi *et al.*²² demonstraram a presença da mutação do gene *K-ras* no plasma de pacientes com neoplasia maligna, entre as quais o câncer gástrico. Além disso, revelaram o desaparecimento da mutação do gene *K-ras* em aproximadamente 7 dias após a realização de cirurgia curativa bem sucedida em pacientes com câncer gástrico.

Análises de mutações no DNA plasmático também foram realizadas com relação ao gene *TP53*. O gene, localizado no braço curto do cromossomo 17, é um dos protótipos dos genes supressores tumorais e está envolvido com a regulação da proliferação celular, inibindo a divisão da célula, além de desempenhar um papel importante na apoptose. Mutações no gene *TP53* estão entre as alterações genéticas mais comuns no câncer em seres humanos²³. Su *et al.*²⁴ demonstraram que mutações do gene *TP53* podem ser detectadas no plasma de pacientes com câncer gástrico. Schlechte *et al.*²⁵ analisaram 25 pacientes com tumores do sistema gastrointestinal, incluindo câncer gástrico, e observaram que 79% dos pacientes apresentam mutações do gene *TP53* detectáveis no plasma. Além disso, descreveram que seis dos sete pacientes que tinham mutações detectáveis no plasma após o tratamento apresentaram metástases.

Alterações epigenéticas, mudanças reversíveis e herdáveis no genoma funcional que não alteram a seqüência de nucleotídeos do DNA, tais como hipo e hipermetilação do DNA, possuem um papel importante no desenvolvimento do câncer. Mudanças nos padrões de metilação têm sido associadas com a expressão alterada de um grande número de genes envolvidos no controle do ciclo celular e na apoptose²⁶. A metilação da região promotora é um dos mecanismos reguladores da atividade em genes supressores tumorais e em proto-oncogenes, e ocorre precocemente no mecanismo de carcinogênese²⁶. Portanto, o perfil de metilação do DNA circulante extracelular configura-se como uma ferramenta promissora no diagnóstico precoce de malignidade, assim como indica alterações primárias ocorridas no aparato genético que levam à tumorigênese^{15,27}. As seqüências promotoras de diversos genes apresentam hipermetilação em tumores gástricos, o que geralmente resulta no silenciamento da transcrição destes genes. Lee *et al.*²⁸ estudaram o padrão de metilação de cinco genes (*DAP-quinase*, *E-caderina*, *GSTP1*, *p15* e *p16*) em amostras pareadas de tumor e soro de 54 pacientes com câncer gástrico observando que mais de 60% das amostras de soro apresentavam o mesmo padrão de hipermetilação aberrante presente no DNA do tumor. Na mesma linha, Ichikawa *et al.*²⁹ observaram que a hipermetilação de dois genes (*p16* e *E-caderina*) no DNA sérico livre de pacientes com câncer gástrico estava relacionada com a presença de tumor primário no estômago. O teste apresentou adequada especificidade para diagnóstico de câncer gástrico, apesar de não ter demonstrado uma alta sensibilidade. Posteriormente, o mesmo grupo de pesquisadores analisou se a sensibilidade poderia ser aumentada se fosse analisado mais um gene (*RAR-beta*, que codifica um receptor do ácido retinóico), mas não houve aumento significativo da sensibilidade³⁰. Kolesnikova *et al.*³¹ estudaram o padrão de metilação dos genes *MGMT*, *p15* e *hMLH1* no plasma de 20 pacientes com câncer gástrico e 22 indivíduos saudáveis, reportando que a análise destes genes resultou em 75% de sensibilidade na detecção de câncer gástrico, mas apresentou baixa sensibilidade (54%). Estudos complementares que avaliem um maior número de genes e de pacientes ainda são necessários para estabelecer a real utilidade da detecção de metilação aberrante no sangue de indivíduos com câncer gástrico como marcador tumoral.

Ensaio envolvendo DNA circulante podem ser usados para controlar a eficácia de tratamento cirúrgico, da radioterapia e da quimioterapia³². Medidas freqüentes dos níveis de DNA circulante parecem ser mais importantes do que a aferição única. Um aumento dos níveis de DNA circulante sugere progressão da doença, em particular de metástases. Além disso, a concentração de nucleossomos circulantes parece corresponder ao estado clínico do paciente após quimioterapia e radioterapia. Como a maioria dos quimioterápicos induz apoptose no câncer e, parcialmente, em células normais, o conteúdo de nucleossomos no sangue pode ser usado para o controle da eficácia da terapia antitumoral³².

Pode-se considerar surpreendente o fato de que o RNA livre seja utilizado como um marcador prognóstico devido à sua instabilidade e fácil degradação³³. Sabe-se que a concentração de RNase é maior em pacientes oncológicos do que em indivíduos saudáveis, e as enzimas de degradação do RNA são extremamente estáveis. Entretanto, tem-se demonstrado que o RNA livre circula ligado a outras moléculas, o que o protege contra a degradação por nucleases. Questiona-se se o RNA extracelular consiste apenas em um produto originado pela morte celular ou se é ativamente secretado. Além disto, como são necessárias altas concentrações de nucleases para digerir os ácidos nucléicos, formulou-se a hipótese de que pudesse existir uma forma resistente às nucleases, como híbridos DNA:RNA³³.

A correlação entre RNA circulante e o diagnóstico de tumores tem sido amplamente estudada²¹. Em pacientes com câncer, a quantidade de RNA circulante pode estar aumentada em comparação com indivíduos saudáveis, e podem existir genes específicos de tumores passíveis de serem detectados no plasma ou no soro a partir do RNA. Se por um lado sabe-se que ao menos uma parcela do RNA circulante de pacientes com câncer é secretada pelo próprio tumor, por outro não existe ainda uma explicação sobre o motivo pelo qual os tumores secretam RNA. Além disto, enquanto o RNA extracelular parece indicar a presença de tumores específicos, ainda não foi esclarecido se determinados complexos ou seqüências de RNA no soro ou no plasma poderiam ser utilizados como biomarcadores de progressão tumoral ou de resposta ao tratamento³⁴. Diversos tipos de RNA foram investigadas em pacientes portadores de diferentes cânceres, incluindo componentes de telomerase, transcritos de RNA viral e outros transcritos relacionados a tumores¹⁹. Algumas das espécies de RNA relacionadas a tumores demonstraram correlação com parâmetros clínicos e podem estar associadas a um pior prognóstico. A maioria dos estudos relativos ao RNA plasmático utilizou ensaios qualitativos, enquanto mais recentemente alguns grupos aplicaram testes quantitativos¹⁹.

O RNA mensageiro (mRNA) caracteriza-se como intermediário entre o gene codificado e o produto final – a proteína –, e, no nível celular, a concentração da respectiva proteína é proporcional à quantidade de mRNA. Diferentes tumores tipicamente expressam distintas formas protéicas, por isto os respectivos mRNAs podem ser utilizados como marcadores de triagem e monitoramento do câncer. Neste sentido, a investigação de mRNA livre no sangue de pacientes com neoplasia pode ser útil para detecção precoce e diagnóstico de diversas formas de câncer³⁵. Estudos realizados em pacientes com câncer gástrico analisaram principalmente a presença de mRNA livre no plasma dos genes *hTERT* e *MUC1*³⁶⁻³⁹. A glicoproteína de membrana *MUC1* constitui-se como um dos componentes da superfície celular ductal de células glandulares normais, e sua superexpressão e glicosilação aberrante ocorrem em células carcinomatosas³⁸. A proteína *hTERT* corresponde à subunidade catalítica da enzima telomerase e atua como uma transcriptase reversa, ativando

essa enzima. Como os telômeros são encurtados em células tumorais e a telomerase é ativada em células imortais, sugere-se que a telomerase seja um potencial oncogene. A superexpressão destes genes foi previamente correlacionada com a progressão tumoral da neoplasia de estômago³⁶.

Shin *et al.*³⁸ avaliaram os mRNA de cinco genes (*CEA*, *GalNAc-T*, *MUC1*, *c-MET* e *hTERT*) na circulação de indivíduos com câncer gástrico como método diagnóstico para a patologia. Os genes *c-MET* e *hTERT* demonstraram os resultados mais promissores. A taxa de positividade do mRNA *hTERT* foi de 46% no sangue periférico de pacientes com câncer de estômago, a mais elevada entre todas as outras formas de mRNA, exceto o *MUC1*, que foi positivo em todas as amostras, incluindo pacientes e os controles normais. A detecção foi correlacionada com a diferenciação do tumor e metástase em linfonodos regionais. O gene *c-MET*, um proto-oncogene, foi correlacionado com metástase distante e metástase em linfonodos regionais e com o estadiamento do câncer gástrico.

Tani *et al.*³⁹ analisaram a presença de mRNA livre dos genes *hTERT* e *MUC1* em indivíduos com câncer gástrico, no pré- e no pós-operatório observando a presença de mRNA circulante em 6 indivíduos (15%) com câncer no período pré-operatório e em apenas 2 pacientes após a gastrectomia, sendo que o grupo de indivíduos sem neoplasia não apresentou mRNA circulante em nenhum indivíduo analisado. A produção abundante de mRNA dos genes *hTERT* e *MUC1* em tumores gástricos e sua liberação na circulação através dos vasos recém formados do tumor podem permitir sua detecção no sangue periférico de pacientes com câncer gástrico. Outra hipótese para a presença destes mRNAs no sangue é através de sua liberação por necrose ou apoptose das células cancerígenas.

CONCLUSÃO

Os ácidos nucléicos liberados na circulação refletem processos fisiológicos e patológicos do corpo humano. Neste sentido, a possibilidade de isolar moléculas de DNA e RNA extracelulares no plasma e no soro surge como uma ferramenta valiosa na detecção precoce do câncer gástrico, doença em que são empregados procedimentos invasivos para o estabelecimento do diagnóstico. Sob o ponto de vista de prognóstico, ácidos nucléicos circulantes podem ser utilizados no controle da eficácia do tratamento cirúrgico, da radioterapia e da quimioterapia empregados no câncer gástrico.

Declaração de conflito de interesses: nada a declarar

REFERÊNCIAS

1. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2006;12(3):354-62.
2. INCA - Instituto Nacional do Câncer [citado em 22 de abril de 2009]. Disponível em: http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=329.
3. Swaminathan R, Butt AN. Circulating nucleic acids in plasma and serum: recent developments. *Ann NY Acad Sci*. 2006;1075:1-9.
4. DiMarino AJ, Feldman: Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease. 8th ed.

Philadelphia: Saunders Company; 2006.

5. Marrelli D, Pinto E, De Stefano A, Farnetani M, Garosi L, Roviello F. Clinical utility of CEA, CA 19-9, and CA 72-4 in the follow-up of patients with resectable gastric cancer. *Am J Surg*. 2001;181(1):16-9.
6. Mandel P, Métais P. Les acides nucléiques du plasma sanguin chez l'homme. *C R Acad Sci Paris*. 1948;142(3-4):241-3.
7. Tan EM, Schur PH, Carr RI, Kunkel HG. Deoxyribonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest*. 1966;45(11):1732-40.
8. Ziegler A, Zangemeister-Wittke U, Stahel RA. Circulating DNA: a new diagnostic gold mine? *Cancer Treat Rev*. 2002;28(5):255-71.
9. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res*. 1977;37(3):646-50.
10. Stroun M, Anker P, Maurice P, Lyautey J, Lederrey C, Bejanski M. Neoplastic characteristics of the DNA found in the plasma of cancer patients. *Oncology*. 1989;46(5):318-22.
11. Sorenson GD, Pribish DM, Valone FH, Memoli VA, Bzik DJ, Yao SL. Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1994;3(1):67-71.
12. Sai S, Ichikawa D, Tomita H, Ikoma D, Tani N, Ikoma H, Kikuchi S, Fujiwara H, Ueda Y, Otsuji E. Quantification of plasma cell-free DNA in patients with gastric cancer. *Anticancer Res*. 2007;27(4C):2747-51.
13. Jahr S, Hentze H, Englisch S, Hardt D, Fackelmayr FO, Hesch RD, Knippers R. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. *Cancer Res*. 2001;61(4):1659-65.
14. Holdenrieder S, Stieber P, Chan LY, Geiger S, Kremer A, Nagel D, Lo YM. Cell-free DNA in serum and plasma: Comparison of ELISA and quantitative PCR. *Clin Chem*. 2005;51(8):1544-6.
15. Vlassov VV, Laktionov PP, Rykova EY. Extracellular nucleic acids. *Bioessays*. 2007;29(7):654-67.
16. Shapiro B, Chakrabarty M, Cohn EM, Leon SA. Determination of circulating DNA levels in patients with benign or malignant gastrointestinal disease. *Cancer*. 1983;51(11):2116-20.
17. Anker P, Mulcahy H, Chen XQ, Stroun M. Detection of circulating tumour DNA in the blood (plasma/serum) of cancer patients. *Cancer Metastasis Rev*. 1999;18(1):65-73.
18. Lee TH, Montalvo L, Chrebtov V, Busch MP. Quantitation of genomic DNA in plasma and serum samples: higher concentrations of genomic DNA found in serum than in plasma. *Transfusion*. 2001;41(2):276-82.
19. Fleischhacker M, Schmidt B. Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer – a survey. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1775(1):181-232.
20. Vasioukhin V, Anker P, Maurice P, Lyautey J, Lederrey C, Stroun M. Point mutations of the N-ras gene in the blood plasma DNA of patients with myelodysplastic syndrome or acute myelogenous leukaemia. *Br J Haematol*. 1994;86(4):774-9.
21. Mulcahy HE, Lyautey J, Lederrey C, qi Chen X, Anker P, Alstead EM, Ballinger A, Farthing MJ, Stroun M. A prospective study of K-ras mutations in the plasma of pancreatic cancer patients. *Clin Cancer Res*. 1998;4(2):271-5.
22. Hayashi T, Sugahara K, Dateki N, Yamada Y, Sudou R, Kanematsu T, Kamihira S. Characteristics of plasma DNA and its application for detection of K-ras gene mutation. *Rinsho Byori*. 2000;48(6):547-53.
23. Petitjean A, Achatz MI, Borresen-Dale AL, Hainaut P, Olivier M. TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogene*. 2007;26(15):2157-65.
24. Su PC, Zhang LH, Wan WH, Ren H, Zhang GG, Wang Y, Deng GR, Ji JF. Detection of p53 gene mutation in the plasma of gastric cancer patients. *Beijing Xue Xue Bao*. 2005;37(5):523-6.
25. Schlichte HH, Stelzer C, Weickmann S, Fleischhacker M, Schulz G. TP53 gene in blood plasma DNA of tumor patients. *Ann NY Acad Sci*. 2004;1022:61-9.
26. Baylin SB, Herman JG. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics. *Trends Genet*. 2000;16(4):168-74.
27. Kanyama Y, Hibi K, Nakayama H, Kodera Y, Ito K, Akiyama S, Nakao A. Detection of p16 promoter hypermethylation in serum of gastric cancer patients. *Cancer Sci*. 2003;94(5):418-20.
28. Lee TL, Leung WK, Chan MW, Ng EK, Tong JH, Lo KW, Chung SC, Sung JJ, To KF. Detection of gene promoter hypermethylation in the tumor and serum of patients with gastric carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2002;8(6):1761-6.
29. Ichikawa D, Koike H, Ikoma H, Ikoma D, Tani N, Otsuji E, Kitamura K, Yamagishi H. Detection of aberrant methylation as a tumor marker in serum of patients with gastric cancer. *Anticancer Res*. 2004;24(4):2477-81.
30. Ikoma H, Ichikawa D, Daito I, Nobuyuki T, Koike H, Okamoto K, Ochiai T, Ueda Y, Yamagishi H, Otsuji E. Clinical application of methylation specific-polymerase chain reaction in serum of patients with gastric cancer. *Hepatogastroenterology*. 2007;54(75):946-50.
31. Kolesnikova EV, Tamkovich SN, Bryzgunova OE, Shelestyuk PI, Permyakova VI, Vlassov VV, Tuzikov AS, Laktionov PP, Rykova EY. Circulating DNA in the blood of gastric cancer patients. *Ann NY Acad Sci*. 2008;1137:226-31.
32. Holdenrieder S, Nagel D, Schalhorn A, Heinemann V, Wilkowski R, von Pawel J, Raith H, Feldmann K, Kremer AE, Müller S, Geiger S, Hamann GF, Seidel D, Stieber P. Clinical relevance of circulating nucleosomes in cancer. *Ann NY Acad Sci*. 2008;1137:180-9.
33. Fleischhacker M. Biology of circulating mRNA: still more questions than answers? *Ann NY Acad Sci*. 2006;1075:40-9.
34. Zhou H, Xu W, Qian H, Yin Q, Zhu W, Yan Y. Circulating RNA as a novel tumor marker: an in vitro study of the origins and characteristics of extracellular RNA. *Cancer Lett*. 2008;259(1):50-60.
35. Ng EK, Tsui NB, Lam NY, Chiu RW, Yu SC, Wong SC, Lo ES, Rainer TH, Johnson PJ, Lo YM. Presence of filterable and nonfilterable mRNA in the plasma of cancer patients and healthy individuals. *Clin Chem*. 2002;48(8):1212-7.

36. Hu LH, Chen FH, Li YR, Wang L. Real-time determination of human telomerase reverse transcriptase mRNA in gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2004;10(23):3514-7.

37. Uen YH, Lin SR, Wu CH, Hsieh JS, Lu CY, Yu FJ, Huang TJ, Wang JY. Clinical significance of MUC1 and c-Met RT-PCR detection of circulating tumor cells in patients with gastric carcinoma. *Clin Chim Acta*. 2006;367(1-2):55-61.

38. Shin JH, Chung J, Kim HO, Kim YH, Hur YM, Rhim JH, Chung HK, Park SC, Park JG, Yang HK. Detection of cancer cells in peripheral blood of stomach cancer patients using RT-PCR amplification of tumour-specific mRNAs. *Aliment Pharmacol Ther*. 2002;16(Suppl 2):137-44.

39. Tani N, Ichikawa D, Ikoma D, Tomita H, Sai S, Ikoma H, Okamoto K, Ochiai T, Ueda Y, Otsuji E, Yamagishi H, Miura N, Shiota G. Circulating cell-free mRNA in plasma as a tumor marker for patients with primary and recurrent gastric cancer. *Anticancer Res*. 2007;27(2):1207-12.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

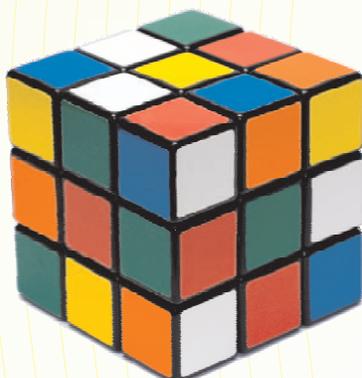
Daniel Simon

Programa de Pós-Graduação em Diagnóstico Genético e Molecular, Universidade Luterana do Brasil (ULBRA)

Av. Farroupilha, 8001, Prédio 22, 5º andar

92425-900 - Canoas - RS

E-mail: daniel.simon@ulbra.br



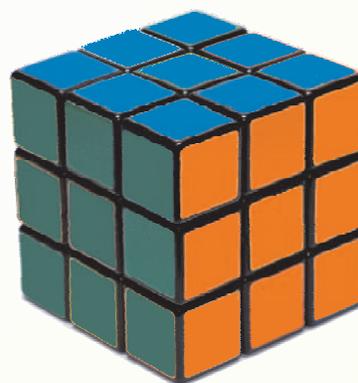
A Evolução do seu laboratório



**Sistema
Nacional de
Acreditação**

DICQ

*Faça como os melhores do país:
Seja um laboratório acreditado.*



**Acreditação de Sistema de Gestão da Qualidade de
Laboratórios Clínicos e de Organizações
Prestadoras de Serviços de Saúde**

Saiba mais. Acesse: www.dicq.org.br ou entre em contato conosco pelos telefones 21 2187-0830 ou 2187-0832 ou pelos e-mails: acreditacao@dicq.org.br e acreditacaodicqona@dicq.org.br

Análise da soroprevalência de HBsAg e ANTI-HBc em doadores de sangue na região de Campo Mourão*

Analysis of seroprevalence of HBsAg and anti-HBc in blood donors in the region of Campo Mourão

Hiandra Justi Vicente¹; Aline Paula Isolani²

RESUMO - A infecção pelo vírus da hepatite B (VHB) é um importante problema de saúde pública mundial. A Organização Mundial de Saúde estima que cerca de dois bilhões de pessoas no mundo já tiveram contato com o VHB. O objetivo deste estudo é pesquisar a prevalência de indivíduos Anti-HBc e HBsAg reagentes entre os doadores de sangue na região de Campo Mourão. Foram consultados os prontuários dos doadores de sangue do Hemonúcleo de Campo Mourão do ano de 2007, referentes à reatividade para o HBsAg e anti-HBc. A soroprevalência de HBsAg foi de 0,48% e de anti-HBc foi de 4,8%. Esta pesquisa poderá auxiliar a saúde pública na adoção de estratégias e implantação de novas políticas de prevenção e controle do VHB e também poderá ser utilizado como fonte de consulta sobre a incidência da hepatite B na região da COMCAM.

Palavras-chave: Hepatite B; Prevalência; HBsAg; Anti-HBc.

SUMMARY - Hepatitis B Virus infections (HBV) have been a serious world health problem. The World Health Organization believes that about two billion people have already been in touch with the HBV around the world. The aim was to find the prevalence of individuals Anti-HBc and HBsAg reagents among blood donors in the region of Campo Mourão. During this research, it was looked at the results of tests concerning reactivity for the HBsAg and anti-HBc carried out on donors who have donated in 2007 at the Hemonúcleo (Collection Centre of Blood) in the city of Campo Mourão-Paraná. The seroprevalence of HBsAg was 0,48% and anti-HBc was 4,8%. This research may help the public health with donation strategies and with implantation of new policies for preventing and controlling HBV and it will also be used as source for the incidence of HBV in the region of COMCAM (Campo Mourão Region).

Keywords: Hepatitis B; Prevalence; HBsAg; Anti-HBc.

INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da hepatite B (VHB) é um importante problema de saúde pública mundial, podendo evoluir para cirrose hepática e carcinoma hepatocelular²³. Estima-se que existam aproximadamente 350 milhões de portadores crônicos desse vírus distribuídos em várias regiões no mundo¹⁴.

Segundo a Organização Mundial de Saúde, cerca de dois bilhões de pessoas no mundo já tiveram contato com o VHB¹⁹. No Brasil, pelo menos 15% da população já teve contato com o vírus e 1% apresenta doença crônica¹⁶.

No Brasil, a infecção pelo VHB é mais prevalente nos estados do Amazonas, Mato Grosso e na região Sul⁸.

Classifica-se atualmente o VHB como protótipo de um vírus pertencente à família *hepadnaviridae*¹³. Três antígenos são produzidos na infecção por VHB: a) antígeno de superfície do VHB (HBsAg): é o primeiro marcador que aparece no curso da infecção pelo VHB, b) antígeno e do VHB (HBeAg): é detectável no soro durante a replicação viral e c) antígeno central (core) do VHB (HBcAg): identifica indivíduos que entraram em contato com o VHB^{10,12,16,17}.

O VHB pode ser transmitido pelo contato com sangue ou outros fluidos corporais por meio das vias parenteral (agulhas, seringas e outros perfurocortantes contaminados), sexual e vertical (da mãe para filho)^{5,7}.

Classicamente, são considerados como grupos de maior risco de exposição ao vírus os profissionais de saúde, usuários de drogas, hemofílicos, hemodialisados, contatos familiares e receptores de transfusão sanguínea e derivados¹⁵.

A vacina contra o VHB é a forma mais eficaz para a prevenção da hepatite B e tem proporcionado um grande avanço no controle desta enfermidade¹⁸.

Este estudo tem o objetivo de pesquisar a prevalência de indivíduos que já tiveram contato com o VHB (Anti-HBc reagente) e indivíduos infectados pelo VHB (HBsAg reagente) entre os doadores de sangue na região de Campo Mourão (COMCAM).

Serão considerados aspectos epidemiológicos como faixa etária e sexo, para dar suporte à saúde pública na intervenção e adoção de estratégias de prevenção e controle do vírus.

MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia de estudo deste trabalho foi descritivo-exploratório, de natureza quantitativa, realizado no Hemonúcleo

Recebido em 30/06/2009

Aprovado em 20/10/2010

¹ Acadêmica de Farmácia da Faculdade Integrado de Campo Mourão.

² Professora Mestre da disciplina de Imunologia Clínica do curso de Farmácia da Faculdade Integrado de Campo Mourão.

* Hemonúcleo de Campo Mourão

de Campo Mourão (Campo Mourão é a sede da COMCAM, estabelecida na microrregião 12, agregando 25 municípios, totalizando uma população de aproximadamente 346.000 habitantes), que recebe doações diariamente de todos os municípios da COMCAM.

Os dados dos doadores da região foram coletados através de consultas aos prontuários no Hemovida que é um sistema informatizado. Foram analisadas as doações de sangue realizadas do dia 01/01/2007 à 31/12/2007 e selecionadas referentes à reatividade para o HBsAg e Anti-HBc. Também foram considerados, neste estudo, dados epidemiológicos como faixa etária e sexo.

Os dados coletados foram agrupados por similaridade das informações e os resultados apresentados em gráficos de frequência.

Esse estudo preservou o anonimato dos indivíduos pesquisados, considerando as normas éticas envolvendo pesquisas com seres humanos.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do CEI (Centro Educacional Integrado/Faculdade Integrado de Campo Mourão- PR) conforme número de protocolo 2909.

RESULTADOS

O Hemonúcleo de Campo Mourão recebeu, de 01/01/2007 a 31/12/2007, 5342 doadores, dos quais 26 (0,49%) apresentaram-se HBsAg reagentes e 257 (4,81%), anti-HBc reagentes (figura 1).

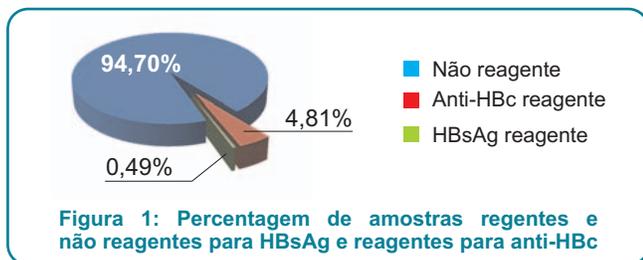


Figura 1: Percentagem de amostras reagentes e não reagentes para HBsAg e reagentes para anti-HBc

Dos 26 casos registrados com HBsAg reagentes (figura 2), 18 (69,23%) foram encontrados em indivíduos do sexo masculino e 8 (30,77%) do sexo feminino. Considerando-se a faixa etária dos doadores, a soroprevalência entre 18 e 29 anos foi de 12 casos (46,15%), sendo 30,76% do sexo masculino e 15,38% do sexo feminino. Entre 30 a 60 anos, foram registrados 14 casos (53,84%), sendo 38,46% homens e 15,38% mulheres. Não houve registro de caso em doadores acima de 61 anos em ambos os sexos.

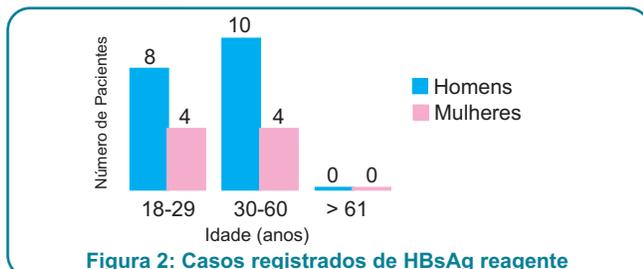


Figura 2: Casos registrados de HBsAg reagentes

Verificou-se que dos 257 casos registrados com anti-HBc reagentes (Figura 3), 169 (65,76%) eram doadores do sexo masculino e 88 (34,24%) do sexo feminino.

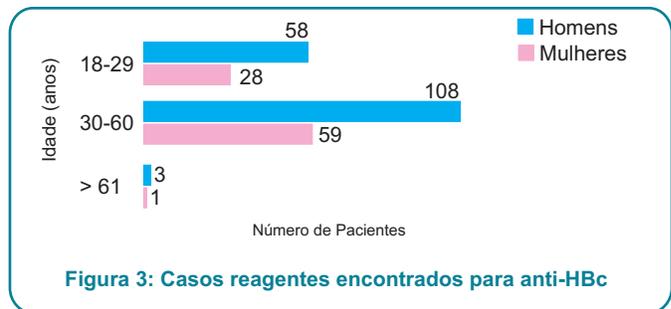


Figura 3: Casos reagentes encontrados para anti-HBc

A faixa etária de 18 a 29 anos apresentou 86 casos (33,46%) dos quais 22,56% são do sexo masculino e 10,89% são do sexo feminino. Dos pacientes de 30 a 60 anos, foram registrados 167 (64,98%) doadores com reatividade para anti-HBc, sendo que 42,02% são homens e 22,95% são mulheres. Entre os doadores acima de 61 anos a reatividade para anti-HBc totaliza 4 casos (1,56%), dos quais 1,17% são do sexo masculino e 0,39% são do sexo feminino.

DISCUSSÃO

A prevalência de HBsAg reagentes em 0,48% dos doadores de sangue no Hemonúcleo de Campo Mourão reflete um percentual inferior a vários estudos de soroprevalência realizados em diferentes cidades do Brasil. No Hemocentro de Ribeirão Preto - SP, foram registrados 0,6% de doadores com testes de HBsAg reagentes²². O Hemocentro de Sergipe, entre os anos de 2004 e 2006, registrou um aumento na frequência de reatividade para HBsAg de 0,96% até 1,77% (20) similar ao Hemocentro de Campinas (1,52%) (11) e à Apucarana - PR (1,2%)⁶.

Baseado na taxa de HBsAg encontrada, podemos considerar a região de Campo Mourão como uma área de baixa endemicidade (menor que 2%)¹⁹.

Neste trabalho encontrou-se uma maior soroprevalência de HBsAg em doadores do sexo masculino (69,23%), semelhante à encontrada em indivíduos do Pará (62,6%)². Também foi semelhante aos resultados encontrados em doadores do Hemocentro de Apucarana (100%)⁶ e de Ribeirão Preto-SP (92,98%)²².

A concordância destes resultados indica uma maior exposição do homem aos riscos de infecção, seja pelo maior número de parceiros sexuais, homossexualismo, compartilhamento de lâmina de barbear, maiores riscos de acidente com necessidade de transfusão, hemofilia, etc.^{1,9} ou simplesmente pelo fato da maioria dos doadores de sangue serem homens.

Não houve registro de HBsAg reagentes em indivíduos acima de 61 anos; isto pode ser explicado pelo fato de que doações de sangue são permitidas para indivíduos de 18 a 60 anos, a não ser que seja por autorização médica.

A prevalência de anti-HBc reagentes neste estudo é de 4,8%, inferior aos estudos realizados no estado do Acre (54,8%)²¹, em Apucarana (25,5%)⁶, Campinas (11,5%)¹¹ e

Ribeirão Preto (8,7%)²² e sendo superior apenas ao Sergipe (3,75%)²⁰ e Santiago-RS (1,59%)³.

Considerando-se o sexo dos doadores, assim como na análise de HBsAg, obteve-se maior soroprevalência de Anti-HBc no sexo masculino (65,76%), assemelhando-se ao estudo realizado no Acre (60,1%)²¹.

Na comparação por faixa etária, pôde-se observar, nos indivíduos de 30 a 60 anos, a maior soroprevalência: 53,84%, HBsAg reagente e 64,98%, anti-HBc reagente. Estes dados refletem a dificuldade de encontrar doadores de sangue, pois os indivíduos com reatividade para esses marcadores sorológicos são considerados inaptos para doação de sangue.

Contudo, vale ressaltar que a vacinação é o método mais eficaz para a prevenção da hepatite B, sendo muito importante para auxiliar na redução dos gastos, principalmente com o transplante hepático, que é altíssimo. Como pôde-se ver, em um estudo realizado no SUS (Sistema Único de Saúde) brasileiro, o gasto médio anual por paciente variou de R\$ 462,37 na hepatite crônica sem tratamento antiviral, até R\$ 87.372,60 no primeiro ano após o transplante hepático⁴.

Esta pesquisa poderá auxiliar a saúde pública na adoção de estratégias e implantação de novas políticas de prevenção e controle do VHB, sendo muito importante para população receber informações, na forma de palestras educativas nas escolas ou na rádio local, no sentido de conhecer as medidas preventivas do VHB.

Este estudo poderá colaborar com outros autores, permitindo um comparativo epidemiológico com outras regiões e, também, poderá ser utilizado como fonte de consulta sobre a incidência da hepatite B na região da COMCAM.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a colaboração do professor da Faculdade Integrado de Campo Mourão João Paulo Alves Pagotto, à chefe geral do Hemonúcleo de Campo Mourão Maria Luzia Barbaroto Salvador, aos meus colegas, à minha família e principalmente a Deus.

REFERÊNCIAS

1. ALTER M. J. - Heterosexual transmission of hepatitis B and implication for vaccine - Prevention Strategies. In: Bennet DL (ed) The Control of hepatitis B: The role of prevention in adolescence, London, p. 21-25, 1991.
2. AQUINO J. A.; PEGADO K. A.; BARROS L. P.; MACHADO L. F. A. - Soroprevalência de infecções por vírus da hepatite B e vírus da hepatite C em indivíduos do Estado do Pará. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 41(4): 334-337, 2008.
3. CAETANO M. M. & BECK S. T. - Importância da detecção de anticorpos anti-HBc na prevenção da transmissão do vírus da hepatite B (VHB) em bancos de sangue. Rev. Bras. Anál. Clín., 38(4): 235-237, 2006.
4. CASTELO A.; PESSOA M. G.; BARRETO T. C. B. B.; ALVES M. R. D.; ARAÚJO D. V. - Estimativas de custo da hepatite crônica B no sistema único da saúde Brasileiro em 2005. Ver. Assoc. Méd. Bras., 53(6): 486-491, 2007.
5. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Disponível em: <http://www.cdc.gov/spanish/especialesCDC/DiaHepatitis/>. Acesso em: 04 abril 2009;
6. COLLI L.; SILVEIRA T. G. V.; BERTOLINI D. A. - Prevalência da Hepatite B em doadores de sangue no Núcleo de Hemoterapia de Apucarana (Hemepar), Estado do Paraná, Brasil. Acta Scientiarum. Health Science, 21 (2): 363-368, 1999.
7. EASL. EASL. International Consensus Conference on hepatitis B. 13-14 September,

- 2002: Geneva, Switzerland. Consensus statement (short version). Hepatol, 38: 533-540, 2003.
8. FERNANDES, J. V.; BRAZ R. F. S.; A. NETO F. V.; SILVAM. A.; COSTAN. F.; FERREIRA. A. M. - Prevalência de marcadores sorológicos do vírus da hepatite B em trabalhadores do serviço hospitalar. Rev. Saú. Púb., 33 (2):122-128, 1999.
9. FONSECA J. C. F. Hepatite B no Estado do Amazonas. Moderna Hepatologia, Brasil, 1: 33-35, 1989.
10. FONSECA J. C. F. História natural da hepatite crônica B. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 40(6): 672-677, 2007.
11. GONÇALVES JUNIOR F. L.; BOCCATO R. S. B. S.; PEDRO R. J.; PAPAORDANOU P. M. O.; SOUZA C. A.; CONÇALES N. S. L.; PELLEGRINO JUNIOR J. - Prevalências do HBsAg, do Anti-HBc e do anti-HCV na população de candidatos a doadores de sangue do Hemocentro-Campinas. Rev. Inst. Med. Trop., 35 (1): 45-51, 1993.
12. HOOFNAGLE J. H. & DI BISCEGLIE A. M. Serologic diagnosis of acute and chronic viral hepatitis. Seminars in Liver Disease, 11: 73-83, 1991.
13. KIDD-LJUNGGREN K.; MIYAKAWA Y.; KIDDA. H. - Genetic variability in hepatitis B viruses. J Gen Virol, 83:1267-1280, 2002.
14. LEE W.M. - Hepatitis B virus infection. The New England Journal of Medicine, 337: 1773-1745, 1997.
15. MAYNARD J.E. Hepatitis B: global importance and head for control. Vaccine, 8(1): 18-20, 1990.
16. Ministério da Saúde - Programa Nacional Para a Prevenção e o Controle das Hepatites Virais. Disponível no endereço: <http://www.saude.gov.br/sps/areastecnicas/hepatite.htm>. Acesso em 22 de janeiro de 2009;
17. MITCHEL M. D. et al. - Fundamentos de Patologia- Robbins e Cotran. Bases Patológicas das Doenças, 7 ed., Rio de Janeiro-RJ, 7 ed., Elsevier, 2006, p.471
18. Ng K. P.; SAE T. L.; BAKI A.; ROZAINAH K.; PANG K. W.; RAMANATHAN M. - Impact of the Expanded Program of Immunization against hepatitis B infection in school children in Malaysia. Med Microbiol Immunol (Berl), 194 (3):163-168, 2005.
19. Organización Mundial de La Salud. Disponível no endereço: <http://www.who.int/es/>. Acesso em 9 de maio de 2009;
20. SANTOS, E. A. S.; MARCELLINI P. S.; RIBEIRO J. P. - Avaliação Epidemiológica das rejeições dos doadores de sangue no HEMOLACEN/SE no período de 2004 a 2006. Rev. Bras. Anál. Clín., 40(4): 251-256, 2004.
21. SILVAR. S. U.; RIBEIRO S. A. L.; SILVEIRA R. P.; FREITAS M. S. - Avaliação da pré-triagem sorológica para o marcador do vírus da hepatite B (anti-HBc total) em candidatos à doação de sangue no Estado do Acre, 2002. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 39(2):179-182, 2006.
22. VALENTE V. B.; COVAS D. T.; PASSOSA. D. C. - Marcadores sorológicos das hepatites B e C em doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto, SP. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 38(6): 488-492, 2005.
23. ZUCKERMAN J. N. & ZUCKERMAN A. The epidemiology of hepatitis B. Clinical in Liver Diseases, 3: 179-188, 1999.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Aline Isolani

Av. Manoel Mendes de Camargo, 731 cx. postal: 731

CEP – 87.302-080

Campo Mourão – PR

Fone: (44) 3523-2063

e-mail: alineisolani@uol.com.br



**Sociedade
Brasileira de
Análises
Clínicas**

43 anos

**Consolidando o futuro
das análises clínicas no Brasil**

Associe-se: www.sbac.org.br

Avaliação do tratamento com o óleo essencial do *Allium sativum* (alho) em pacientes parasitados

Evaluation of treatment with the essential oil of *Allium sativum* (garlic) in patients infected

Caliandra Maria Bezerra Luna Lima¹, Marcílio de Oliveira Lima³, Francisco Simão de Figueiredo Júnior²,
Marília Gabriela dos Santos Cavalcanti¹, Liana Clébia Soares Lima de Moraes¹,
Francisca Inês de Sousa Freitas², Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz²

RESUMO - Investigou-se a prevalência das enteroparasitoses em pacientes atendidos pelo PSF do bairro Renascer III, da cidade de Cabedelo e estudou-se a atividade antiparasitária das cápsulas de óleo de alho. Uma palestra foi apresentada no PSF e distribuíram-se coletores de fezes. Mulheres parasitadas foram submetidas ao tratamento durante 15 dias com as cápsulas de óleo de alho. As fezes foram coletadas no 7º e 15º dia após o início da ingestão. Das 130 amostras analisadas, 104 (80%) foram do sexo feminino e 26 (20%) do sexo masculino. Houve 64 (49,2%) amostras negativas e 66 (50,8%) amostras positivas. A frequência dos enteroparasitas foi: *A. lumbricoides* 13,1%, *T. trichiura* 3,8%, *Ancylostomidae* 2,3%, *S. stercoralis* 0,7%, *S. mansoni* 0,7%, *E. nana* 30,8%, *E. histolytica*/*E. dispar* 13,8%, *E. coli* 10,0%, *G. intestinalis* 3,1%, *I. bustchlii* 1,5%. Para o tratamento com as cápsulas de óleo de alho, durante 15 dias, foi selecionada uma amostra de 23 mulheres foram submetidas ao tratamento, das quais, 11 com amebíase, 9 com ascaridíase, 2 com giardíase e 1 com ancilostomíase. No 8º dia de tratamento todas as pacientes apresentaram exames positivos. No 16º dia, 2 pacientes apresentaram exames negativos, estando parasitadas por *E. histolytica*/*E. dispar*. A frequência de enteroparasitos foi elevada. O tratamento não evidenciou atividade antiparasitária do óleo de alho.

Palavras-chave: enteroparasitoses, *Allium sativum*, fitoterápicos.

SUMMARY - The prevalence of intestinal parasites in patients of the district Renascer PSF III, in the city of Cabedelo was investigated and studied the antiparasitic activity of the capsules of garlic oil. Women parasitized been treated for 15 days with capsules of garlic oil. Fecal material was collected at 7 and 15 days after the start of ingestion. Of the 130 samples analyzed, 104 (80%) female and 26 (20%) male. There were 64 (49.2%) negative samples and 66 (50.8%) positive samples. The frequency of intestinal parasites were: *A. lumbricoides* 13.1%, *T. trichiura* 3.8%, *Ancylostomidae* 2.3%, *S. stercoralis* 0.7%, *S. mansoni* 0.7%, *E. nana* 30.8%, *E. histolytica* / *E. dispar* 13.8%, *E. coli* 10.0%, *G. intestinalis* 3.1%, *I. bustchlii* 1.5%. For treatment with garlic oil capsules, for 15 days, was selected one sample of 23 women underwent the treatment, of which 11 with amebiasis, 9 with ascariasis, 2 with giardiasis and 1 with hookworm. On the 8th day of treatment all patients had positive results. On day 16, two had tested negative, while parasitized by *E. histolytica* / *E. dispar*. The frequency of intestinal parasites was high. The treatment did not reveal antiparasitic activity of garlic oil.

Keywords: intestinal parasites; *Allium sativum*, phytoterapics.

INTRODUÇÃO

As enteroparasitoses são doenças cosmopolitas com maior prevalência em regiões tropicais. Apresentam determinantes ambientais e sociais e elevada prevalência em regiões com deficiências sanitárias, educacionais e condições inadequadas de habitação¹¹. No Brasil, ainda se encontram bastante disseminadas e constituem afecções com grandes repercussões na saúde do indivíduo, sendo uma ameaça constante à saúde pública²⁷.

Na literatura encontramos referências ao uso de plantas medicinais destinadas ao tratamento das parasitoses intestinais. Entre as mais utilizadas popularmente encontramos o *Allium sativum* (alho) que é usado para a prevenção de disenterias amebianas, ainda, as folhas de *Mentha x villosa* (hortelã miúda) são utilizadas na amebíase e giardíase e para o tratamento da ascaridíase e ancilostomíase é bastante comum o uso do *Chenopodium ambrosioides* (mastruz)¹⁵. Um projeto piloto realizado pelos autores por meio da aplicação de

um questionário em uma comunidade de João Pessoa, situada no bairro Valentina Figueiredo, evidenciou que a planta mais utilizada pela população para tratar e prevenir enteroparasitoses é o alho, fato este que justificou a escolha desta planta para a realização da pesquisa.

O *Allium sativum* (alho) é uma Planta herbácea bulbosa, pertencente à família Liliaceae, e é utilizado desde os primórdios da humanidade, sendo utilizado no tratamento das mais variadas doenças^{2,20}. No que concerne à história do uso do alho é interessante observar como diferentes culturas utilizavam o alho para diversas finalidades. Há evidências de que durante as olimpíadas, na Grécia antiga, os atletas utilizavam alho como alimento para aumentar a força²¹. Na medicina chinesa, o alho foi prescrito para o tratamento de diarreia e verminoses. Na Europa, o alho era prescrito para o tratamento de distúrbios digestivos, renais e parasitoses e ainda para ajudar durante o trabalho de parto. Na Inglaterra, o alho era usado para combater a dor de dente e a constipação⁵. Entretanto, foi somente há três décadas que as propriedades do alho foram cientificamente investigadas²¹.

A maioria dos estudos referentes ao alho nos últimos anos esteve principalmente focada nos campos das doenças

Recebido em 25/03/2010

Aprovado em 21/06/2010

¹Departamento de Fisiologia e Patologia, Universidade Federal da Paraíba.

²Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba

³Universidade Estadual Vale do Acaraú

cardiovasculares⁵. Alguns destes efeitos são citados na Resolução RE nº 89, de 16 de março de 2004, publicada pela ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que determina a “Lista de registro simplificado de fitoterápicos”, em que constam 34 espécies de plantas, entre elas o *Allium sativum*⁸. Nesta resolução, há indicação do uso do alho como coadjuvante no tratamento da hiperlipidemias e hipertensão arterial leve e prevenção da aterosclerose, não havendo nenhuma indicação do alho como antiparasitário, por carência de informações científicas. Apesar de vários estudos científicos terem documentado os efeitos cardioprotetores do alho, muitos resultados sobre a real atividade terapêutica desta planta ainda são bastante questionados. Durante a última década (1993-2002), 18 estudos clínicos foram publicados relativos ao efeito hipocolesterolêmico do alho. Destes, em nove estudos não se evidenciou efeito significativo⁵.

No presente trabalho, procurou-se investigar a prevalência das principais enteroparasitoses em pacientes atendidos pelo Programa de Saúde da Família (PSF) do bairro Renascer III, da cidade de Cabedelo, estado da Paraíba e estudar a atividade antiparasitária das cápsulas de óleo de alho fornecidas pelo laboratório Herbarium, utilizados em indivíduos acometidos pelas seguintes patologias: ascaridíase (*Ascaris lumbricoides*), ancilostomíase (*Ancylostoma duodenale/Necator americanus*), giardíase (*Giardia lamblia*) e amebíase (*Entamoeba histolytica*) de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa em Seres Humanos da Resolução nº 196/96 do CNS/MS.

MATERIAL E MÉTODOS

A primeira etapa do estudo consistiu na apresentação de uma palestra, apresentada na própria sede do PSF, sobre a prevenção das principais enteroparasitoses e explicação sobre a natureza da pesquisa. Na ocasião, os indivíduos adultos que aceitaram participar do projeto receberam coletores para posterior realização do exame parasitológico de fezes (EPF). Os EPF foram realizados no Laboratório de Parasitologia Clínica do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba. Cada participante forneceu uma amostra de fezes em coletores apropriados sem conservantes. As análises foram realizadas pelo método de sedimentação espontânea segundo Lutz (1934), realizando-se três leituras de cada preparação.

O estudo prosseguiu com a divulgação dos resultados dos exames realizados. As mulheres que apresentaram resultados positivos para as enteroparasitoses (ascaridíase, ancilostomíase, giardíase ou amebíase) com forma leve da doença e ainda sem tratamento antiparasitário, foram convidadas a continuar na pesquisa, parâmetros estes que foram utilizados como critérios de inclusão.

A etapa seguinte do estudo consistiu na avaliação de cada paciente. Inicialmente elas foram submetidas a exames físicos (antropometria, pressão arterial, temperatura, frequência de pulso) e aquelas que apresentaram hígidez na avaliação física foram submetidas a exames de análises clínicas, ou seja, após a avaliação física inicial as voluntárias

selecionadas foram encaminhadas ao Hospital Universitário Lauro Wanderley/UFPB pela manhã, sendo-lhes coletado o sangue em tubos com o anticoagulante EDTA (para determinação de parâmetros hematológicos) e em tubos com gel separador – Microtainer Becton Dickson – para obtenção do soro e determinação de parâmetros bioquímicos, sendo solicitado um jejum de doze horas. As pacientes que demonstraram alterações laboratoriais nos exames de análises clínicas, e que revelaram disfunção hepática, renal, diabetes, portadoras de hipertensão arterial e alterações cardíacas, grávidas, alcoólatras (100 mg de álcool/dL de sangue) e em uso de alguma medicação, foram excluídas da pesquisa.

Após a seleção das voluntárias segundo os critérios de exclusão e inclusão, as pacientes receberam as cápsulas de óleo de alho a serem tomadas. Na composição de cada cápsula podiam ser encontrados 247,4 mg de óleo de soja e 2,6 mg de óleo essencial de alho. A ingestão diária consistiu em 02 cápsulas de óleo de alho com equivalência a 7,34 g de alho cru. As voluntárias foram acompanhadas e monitoradas durante o tratamento e assinaram diariamente um termo de responsabilidade no tocante a ingestão das referidas cápsulas. As atividades de rotina e dieta foram mantidas normalmente. As voluntárias foram orientadas a relatar aos pesquisadores qualquer reação adversa e foram avaliadas de acordo com o protocolo experimental elaborado previamente pelos mesmos. A seguir, em datas previamente agendadas, as fezes destas pacientes foram coletadas no 8º e 16º dia após o início da ingestão das cápsulas para a realização de exames parasitológicos de fezes (EPF) pelos métodos de Hoffman, Kato-katz, Willis e Ritchie.

No que concerne aos aspectos éticos, o projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba (protocolo nº 040/07). O delineamento do estudo seguiu as normas estabelecidas na Resolução 196/96 (CNS)¹², que regulamenta a pesquisa em seres humanos e baseado na Resolução 251/97 (CNS)¹³, que normatiza os testes clínicos de novos medicamentos. Todos os indivíduos que participaram do projeto receberam explicação verbal dos procedimentos e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, no qual constavam todas as informações relativas ao estudo, bem como a autorização pelo participante da publicação dos resultados obtidos, sendo resguardado o seu anonimato.

RESULTADOS

O projeto contou com a participação de 130 pessoas para a realização do exame parasitológico de fezes, dos quais 80% (104 pacientes) do sexo feminino e 20% (26 pacientes) do sexo masculino, com faixa etária entre 18 e 59 anos. Os resultados mostraram que 49,2% (64) das amostras foram negativas e 50,8% (66) foram positivas. Os maiores percentuais de positividade foram registrados nas amostras provenientes do sexo feminino 87,9% (58). Entre os homens que realizaram o exame encontrou-se um índice de positividade de 12,1% (8).

Das amostras positivas (n=66), observou-se uma diferença quanto à distribuição de helmintos e protozoários. As amostras de protozoários corresponderam a 57,6% (38), as de helmintos a 31,8% (21) e as de helmintos/protozoários a 10,6%

(7). No que concerne ao grau de exposição aos enteroparasitos, 53% (35) das amostras foram monoparasitadas e 47% (31) apresentaram duas ou mais espécies de parasitas (biparasitadas ou poliparasitadas). A tabela 1 mostra as associações mais frequentes e verifica-se que em praticamente todas foi encontrada a presença de *Endolimax nana*.

A frequência de enteroparasitas na população estudada mostrou-se variada como mostra os gráficos 1 e 2. O protozoário *Endolimax nana* e o helminto *Ascaris lumbricoides* foram os parasitos mais encontrados nas amostras fecais, apresentando em conjunto um percentual de 43,9%.

Os resultados dos exames parasitológicos de fezes foram entregues a todos os participantes da pesquisa em data previamente agendada. Na ocasião da entrega, os participantes receberam por parte dos pesquisadores explicações referentes ao parasito encontrado no EPF e em seguida foram encaminhados para tratamento no próprio PSF. As 36 pacientes que apresentaram exames positivos para ascaridíase, ancilostomíase, giardíase ou amebíase foram convidadas a continuar na pesquisa, sendo que 23 participaram da pesquisa até o final, 12 não quiseram participar e apenas 1 desistiu durante a realização do exame físico.

As 23 pacientes que participaram apresentavam-se monoparasitadas ou poliparasitadas, tendo sido tomado como critério de inclusão a presença dos parasitos escolhidos para a pesquisa. O tratamento foi realizado com 11 pacientes infectadas com *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, 9 com *Ascaris lumbricoides*, 2 com *Giardia lamblia* e 1 com Ancilostomídeos.

Na análise do material fecal obtido no 8º dia, após iniciado o tratamento, evidenciou-se positividade em todos os EPF das pacientes, fato atribuído à presença de cistos de protozoários e ovos de helmintos. Na última avaliação, que foi realizada no 16ª dia, 91,3% (21) continuaram com exames positivos e apenas 8,7% (2) apresentaram exames parasitológicos negativos, sendo estes parasitados por *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*. Estes resultados não foram considerados significativos após a análise utilizando o teste qui-quadrado.

Tabela 1: Distribuição das associações entre enteroparasitas e comensais detectadas em adultos atendidos no PSF do Renascer III em Cabedelo-PB

Associações	Número	%
<i>A. lumbricoides/ G. lamblia/ E. nana</i>	1	3,2%
<i>A. lumbricoides/ I. buitschlii/E. nana</i>	1	3,2%
<i>A. lumbricoides/ E. coli/E. nana</i>	1	3,2%
<i>A. lumbricoides/ E. nana</i>	3	9,7%
<i>Ancylostomidae/ E. nana</i>	1	3,2%
<i>G. lamblia/ E. nana</i>	2	6,5%
<i>E. coli/ E. nana</i>	5	16,1%
<i>E. histolytica/ E. coli/ E. nana</i>	4	12,9%
<i>E. histolytica/ I. bustchlii/E. nana</i>	1	3,2%
<i>E. histolytica/E. nana</i>	11	35,5%
<i>E. histolytica/ E. coli</i>	1	3,2%
Total	31	100%

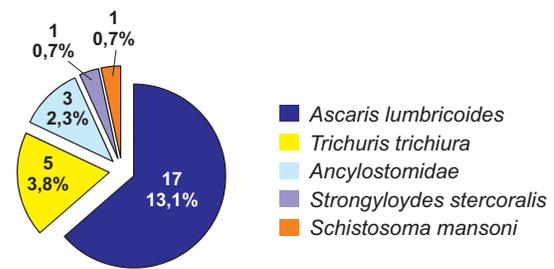


Gráfico 1: Quantidade e frequência de helmintos nos pacientes (n=130) do PSF no Renascer III em Cabedelo-PB

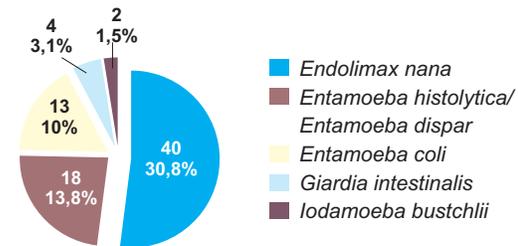


Gráfico 2: Quantidade e frequência de protozoários nos pacientes (n=130) do PSF no Renascer III em Cabedelo-PB

DISCUSSÃO

A apresentação da palestra direcionada à prevenção de parasitoses representou uma boa estratégia de inserção dos pesquisadores na comunidade de Cabedelo. Foi possível constatar as necessidades, anseios e expectativas da comunidade para a realização do projeto de modo a permitir que os pesquisadores pudessem planejar de maneira mais efetiva as atividades a serem desenvolvidas na execução do projeto. Segundo Pereira (2003) a prática educativa em saúde refere-se às atividades voltadas para o desenvolvimento de capacidades individuais e coletivas visando à formação do ser sadio. As ações de saúde não são apenas processos de intervenção sobre a doença, mas procedimentos destinados a fazer com que o indivíduo e a coletividade disponham de meios para a manutenção ou recuperação do seu estado de saúde, no qual estão relacionados os fatores orgânicos, psicológicos, sócio-econômicos e espirituais.

O presente trabalho contou com uma maior participação das mulheres (80%) o que pode ser justificada por fatores como: menor procura pelos serviços disponibilizados pelo PSF pelos indivíduos do sexo masculino e, conseqüentemente, menor preocupação destes com a saúde, uma resistência dos indivíduos do sexo masculino em realizar exames parasitológicos de fezes, fato evidenciado durante a realização da palestra educativa.

As enteroparasitoses sofrem variações conforme a região de cada país, as condições de saneamento básico, o nível sócio-econômico, o grau de escolaridade, a idade e os hábitos de higiene de cada indivíduo e representam assim, um importante problema de saúde pública¹⁸. A elevada frequência de enteroparasitos (50,8%) na comunidade estudada reflete a precariedade das condições sanitárias e educacionais das mesmas. Os fatores determinantes do elevado parasitismo foram atribuídos à baixa renda familiar, famílias numerosas residindo no mesmo domicílio, às baixas condições de higiene e

ao pouco conhecimento da profilaxia de protozoários e helmintos, fatos comprovados pelos questionários sócio-culturais respondido no dia da palestra educativa.

A maior frequência de protozoários do que de helmintos entre os adultos analisados corroboram com estudos anteriormente realizados por FREITAS *et al.* (2005) no município do Conde-PB que encontraram uma maior prevalência de helmintos em crianças e uma maior prevalência de protozoários em idosos.

A presença simultânea de duas ou mais espécies de parasitas foi freqüente e em praticamente todas as associações foram encontradas a presença de *Endolimax nana*. Sabe-se que esse protozoário é comensal, mas tem a mesma fonte de infecções que outros protozoários patogênicos¹.

O *Ascaris lumbricoides* foi o helminto mais prevalente e consiste na espécie mais conhecida entre os nematódeos. É popularmente conhecido como lombriga ou bicha, causando a doença denominada ascaridíase²⁴. Este fato chamou a atenção na pesquisa, pois a população participante conhecia o helminto como “verme comum”, nome não referenciado na literatura, mas que pode ser justificado pela presença constante deste helminto entre os adultos.

A prevalência elevada de *A. lumbricoides* constitui um importante indicador do estado de saúde de uma população, pois reflete as precárias condições sanitárias. Encontram-se na literatura vários fatores que interferem na sua prevalência tais como: nível educacional, tipo de comunidade, grande concentração de indivíduos vivendo em condições precárias de saneamento básico, nível socioeconômico, acessibilidade a bens e serviços, estado nutricional e fatores ambientais como, por exemplo, a temperatura e umidade^{19,25}.

O *Trichuris trichiura*, o segundo helminto mais prevalente, é responsável pela doença conhecida como tricuriase. É uma parasitose cosmopolita, com maior incidência em climas quente e úmidos e é frequentemente associada ao *Ascaris lumbricoides*¹⁹. Acredita-se que a menor incidência de ancilostomídeos, verificada no nosso estudo, possa estar relacionada ao fato de que os enteroparasitas mais encontrados sejam de transmissão oral. Os baixos índices de *Strongyloides stercoralis* e a não ocorrência de *Enterobius vermicularis* e *Taenia sp*, na amostra investigada, podem estar relacionados ao método coproparasitológico utilizado. A escolha do método baseou-se na abrangência e no custo do mesmo, no entanto inespecífico para determinadas espécies de helmintos.

A presença de enterocomensais (*E. nana*, *E. coli* e *I. bustchlii*) apesar de não serem causadores de doenças, apresenta o mesmo mecanismo de transmissão de outros protozoários patogênicos, como *Giardia lamblia* e *Entamoeba histolytica* e podem servir como um indicador das condições sócio-sanitárias e facilitar um melhor entendimento da epidemiologia das enteroparasitoses^{27,28}.

A frequência de *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* foi considerada alta quanto comparada a outros estudos. Resultados obtidos por Braga *et al.* (2001) demonstraram uma prevalência de 14,9 % para *Entamoeba histolytica* em uma comunidade na periferia de Fortaleza. Este

estudo reforça ainda mais a endemicidade deste parasito na região Nordeste do país. De acordo com Neves (2005), a amebíase pode atingir todas as idades, sendo mais freqüente nos adultos.

Os resultados demonstraram uma baixa freqüência de *Giardia lamblia*, que pode ser justificado pela faixa etária escolhida para a pesquisa. Levantamentos parasitológicos já realizados demonstraram que a giardíase é uma das principais parasitoses intestinais entre crianças brasileiras²⁶. Estudos realizados por Tavares-Dias *et al.* (1999) demonstraram que a giardíase ocorreu predominantemente em crianças de 0 a 15 anos de idade e em indivíduos adultos não se evidenciou tal infestação.

Dados disponíveis na literatura apontam que a realização de um único exame parasitológico de fezes pode ser insuficiente para realizar o diagnóstico preciso de *Giardia lamblia*, pois este protozoário apresenta o período negativo, ou seja, a eliminação de cistos pelo indivíduo parasitado não é constante, podendo levar a resultados falso-negativo²⁹. A obtenção de mais de uma amostra fecal por participante, procedimento que poderia aumentar a sensibilidade de detecção de cistos de *Giardia lamblia*, não foi realizado devido as possíveis dificuldades operacionais que poderiam ser encontradas.

Os helmintos e protozoários mais encontrados apresentam o mesmo mecanismo de transmissão, ou seja, ingestão de ovos e cistos, respectivamente. Este fato pode ocorrer principalmente através da ingestão de água ou alimentos contaminados o que justifica uma possível contaminação na comunidade.

Apesar dos resultados no nosso trabalho não terem sido estatisticamente significativo, as possíveis propriedades antiparasitárias do *Allium sativum* não devem ser descartadas, em concordância com o que é descrito em artigos publicados em revistas científicas e considerando que o óleo essencial de alho foi administrado apenas na dose de 5,2 mg.

O alho vem sendo utilizado desde a antiguidade para o tratamento de parasitoses intestinais. A alicina é reportada na literatura por apresentar atividade antibacteriana, antifúngica. A atividade in vitro da alicina foi comprovada para enteroparasitas como *Entamoeba histolytica* e *Giardia lamblia*³. Embora seja recomendado no tratamento de parasitoses intestinais em humanos e animais, os estudos reportados na literatura apresentam variações quanto a padronização da dose e da forma em que o alho é utilizado e desta forma os resultados apresentam-se variados. Estudos realizados em caprinos, para avaliar os efeitos do suco de alho, na dose de 1g de suco de alho/kg de peso, por oito dias, sobre nematódeos gastrintestinais demonstraram que este tratamento não foi eficiente no controle desses parasitas⁶.

A avaliação da atividade antiparasitária do alho foi investigada em bezerras da raça nelore que estavam infectadas com nematódeos gastrintestinais. O tratamento foi realizado com alho desidratado adicionado à ração e a análise dos resultados não evidenciou diferença significativa entre os grupos tratados e controle⁹. Em estudo realizado com 70 frangos infectados naturalmente com *Heterakis gallinarum*, no qual utilizou-se suco de alho por 3 dias consecutivos, foi verificado que não houve atividade antihelmínica significativa¹⁶. O efeito da administração do alho na alimentação sobre a

alteração da carga de carrapatos, moscas-dos-chifres, moscas dos estábulos e mosca doméstica foi investigado utilizando-se 16 vacas de raça holandesa, sendo que o alho apresentou baixa eficácia no controle de carrapatos e ineficácia no controle de moscas²³.

O efeito anti-helmíntico do alho foi avaliado em crianças parasitadas pelo *Ascaris lumbricoides*. Elas foram tratadas durante cinco dias com oito gramas de alho por dia, na forma de infusão. Os resultados demonstraram pouca eficácia no tratamento¹⁰.

Estudos realizados em camundongos albinos swiss, naturalmente infectados com *Aspiculuris tetraptera*, demonstraram que o alho apresenta atividade anti-helmíntica quando os animais foram tratados oralmente com alho fresco esmagado durante 7 dias e a análise dos resultados demonstrou que o alho pode ser um tratamento alternativo contra verminoses⁴.

A atividade antiparasitária do trisulfureto dialil produto de transformação da alicina, que é um dos principais componentes do alho, foi investigada in vitro contra vários protozoários parasitas importantes (*Trypanosoma* sp, *Entamoeba histolytica* e *Giardia lamblia*). O IC50 (concentração que inibe o metabolismo ou o crescimento do parasita em 50%) foi avaliado. A análise desses resultados in vitro indica que o composto tem potencial para ser usado para o tratamento de doenças parasitárias²².

CONCLUSÕES

O presente trabalho demonstra que a comunidade apresentou considerável freqüência de enteroparasitos, apesar da coleta para análise de uma única amostra por paciente. Houve uma predominância de *Endolimax nana*, protozoário não patogênico, mas é importante destacar as freqüências de enteroparasitas patogênicos. Os resultados acentuam a necessidade de políticas públicas que direcionem recursos financeiros para que sejam implantadas ações que viabilizem o controle das enteroparasitoses. Com o tratamento utilizando as cápsulas de óleo de alho, nas condições em que foi realizado este estudo, e nas doses utilizadas, não se observou atividade contra os helmintos e protozoários avaliados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório Herbarium pela doação das cápsulas de óleo de alho. Agradece também ao médico Carlos Alberto do Rego Luna pela realização dos exames clínicos e ao Hospital Universitário Lauro Wanderley pelos exames laboratoriais

REFERÊNCIAS

1-ABRAHAM, R.S.; TASHIMA, N.T. & SILVA, M.A. Prevalência de enteroparasitoses em reeducandos da Penitenciária Maurício Henrique Guimarães Pereira de Presidente Venceslau – SP. Rev. Bras. Anal. Clin., 39(1):39-42, 2007
2- AGARWAL, K.C. Therapeutic actions of garlic constituents. Med Res Ver., 16(1):111-124, 1996
3-ANKRI, S. & MIRELMAN, D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes Infect., 1(2):125-129, 1999.
4- AYAZ, E.; TUREL, I.; GUL, A.; YILMAZ, S. Evaluation of the anthelmintic activity of garlic (*Allium sativum*) in mice naturally infected with *Aspiculuris tetraptera*. Recent Pat Antiinfect Drug Discov., 3(2):149-152, 2008.
5- BANERJEE, S.K. & MAULIK, S.K. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. Nutr J., 1(4), 1:14, 2002

6- BATATINHA, J.M.; BOTURA, M.B.; SANTOS, M.M.; SILVA, A.; ALMEIDA, M.G.A.R.; SANTANA, A.F.; BITTENCOURT, T.C.B.S.C. & ALMEIDA, M.A.O. Effects of garlic juice (*Allium sativum* Linn.) on gastrointestinal nematodes of goats. Ciênc. rural., 34(4):1265-1266, 2004.
7- BRAGA, L.L.B.C.; GOMES, M.L.; SILVA, M.W.; PAIVA, C.; SALES, A.; MANN, B.J. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* infections as detected by monoclonal antibody in an urban slum in Fortaleza, Northeastern Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 34(5):467-471, 2001.
8- BRASIL.MINISTÉRIO DA SAÚDE.AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RE nº89, de 16 de março de 2004. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 de março de 2004.
9- BIANCHIN, I. & CATTO, J.B. Alho desidratado (*Allium sativum* L.) no controle de nematódeos gastrintestinais em bovinos naturalmente infectados. Ciênc. rural. 34(4):1267-1270,2004.
10- CAMPOS, R.; AMATO NETO, V.; CASTANHO, R.E.; MOREIRA, A.A.; PINTO, P.L. Treatment of ascariasis with garlic (*Allium sativum*). Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo. 45(5):213-215, 1990.
11- CARVALHO-COSTA, F.A.; GONÇALVES, A.Q.; SILVA NETO, L.M.; SALMAZO, C.A.A.; BÓIA, M.N. *Giardia lamblia* and other intestinal parasitic infections and their relationships with nutritional status in children in Brazilian Amazon. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo., 49(3):147-153, 2007.
12-CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. Resolução no 196/96. Brasília, DF, 1996.
13-CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. Resolução no 251/97. Brasília, DF, 1997.
14- COSTA-MACEDO, L.M.; COSTA, M.C.E. & ALMEIDA, L.M. Parasitismo pelo *Ascaris lumbricoides* em crianças menores de dois anos em comunidade aberta do Rio de Janeiro. Cad. Saúde Pública., 15(1):173-178, 1999.
15-DINIZ, M.F.F.M.; OLIVEIRA, R.A.G.; MEDEIROS, A.C.D.; MALTA JÚNIOR, A. & MOURA, M.D. Memento de Plantas Mediciniais. As plantas como alternativa terapêutica: Aspectos populares e científicos. João Pessoa: Editora Universitária/UFPB, 2006. 173p.
16- FERNANDES, R.M.; RODRIGUES, M.L.A.; BORBA, H.R.; FERNANDES, M.Z.L.C.M.; AMORIM, A. Ausência da atividade anti-helmíntica de plantas em frangos de corte naturalmente infectados com *Heterakis gallinarum* (Schranck, 1788) Madsen, 1949. Ciênc. rural., 34(5):1629-1632, 2004.
17- FREITAS, F.I.S.F.; FIGUEIREDO JÚNIOR, F.S.; LIMA, C.M.B.L.; LACERDA, J.T.A. Perfil Enteroparasitológico de Crianças e Idosos no Município do Conde-PB. Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança. 3(1):33-48, 2005
18- GURGEL, R.Q.; CARDOSO, G.S.; SILVA, A.M.; SANTOS, L.N.; OLIVEIRA, R.C.V. Creche: ambiente expositivo ou protetor nas infestações por parasitas intestinais em Aracajú, SE. Rev Soc Bras Med Trop. 38(3):267-269, 2005.
19-IGLÉSIAS, J.D.F. Aspectos Médicos das Parasitoses Humanas. Rio de Janeiro: MEDSI, 1997. 483 p.
20- JAIN, A.K.; VARGAS, R.; GOTZKOWSKY, S.; McMAHON, F.G. Can garlic reduce levels of serum lipids? A controlled clinical study. Am J Med., 94(6):632-635, 1993.
21- LEDZMA, E. & APITZ-CASTRO, R. Ajoene the main active compound of garlic (*Allium sativum*): a new antifungal agent. Rev Iberoam Micol. 23(2):75-80, 2006.
22- LUN, Z.R.; BURRI, C.; MENZINGER, M.; KAMINSKY, R. Antiparasitic activity of diallyl trisulfide (Dasuansu) on human and animal pathogenic protozoa (*Trypanosoma* sp., *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*) in vitro. Ann Soc Belg Med Trop. 74(1):51-59, 1994.
23- MASSARIOL, P.B.; OLIVO, C.J.; RICHARDS, N.; AGNOLIN, C.A.; MEINERZ, G.R.; BOTH, J.F.; FACCIO, L.; HOHENREUTHER, F.; MARTINELLI, S. Alteração da carga de ectoparasitas em vacas da raça Holandesa submetidas a diferentes níveis de alho (*Allium sativum* L.) na alimentação. Rev. Bras. Pl. Med., 11(1):37-42, 2009.
24- NEVES, D.P.; MELO, A.L.; LINARDE, P.M.; VITOR, R.W.A. Parasitologia Humana. 1ª edição. São Paulo: Atheneu, 2005.498p.
25-PEREIRA, A.L.F. As tendências pedagógicas e a prática educativa nas ciências da saúde. Cad. Saúde Pública. 19(5):1527-1534, 2003.
26-PITNER, E.; MORAES, I.F.; SANCHES, H.F.; TRINCAUS, M.R.; RAIMONDO, M.L.; MONTEIRO, M.C. Enteroparasitoses em crianças de uma comunidade escolar na cidade de Guarapuava, PR. Revista Salus-Guarapuava-PR. 1(1): 97-100, 2007
27- ROCHA, S.R.; SILVA, J.G.; PEIXOTO, S.V.; CALDEIRA, R.L.; FIRMO, J.O.A.; CARVALHO, O.S.; KATZ, N. Avaliação da esquistossomose e de outras parasitoses intestinais, em escolares do município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 33(5):431-436, 2000.
28- SATURNINO, A.C.R.D.; NUNES, J.F.L. & SILVA, E.M.A. Relação entre ocorrência de parasitas intestinais e sintomatologia observada em crianças de uma comunidade carente de Cidade Nova, em Natal - Rio Grande do Norte, Brasil. Rev. Bras. Anal. Clin.;35(2):85-87, 2003.
29- TASHIMA, N.T. & SIMÕES, M.J.S. Parasitas intestinais; prevalência e correlação com a idade e com os sintomas apresentados de uma população infantil de Presidente Prudente – SP. Rev. Bras. Anal. Clin.;37(1):35-39, 2005.
30- TAVARES-DIAS, M. & GRANDINI, A.A. Prevalência e aspectos epidemiológicos de enteroparasitoses na população de São José da Bela Vista, São Paulo. Rev Soc Bras Med Trop. 32(1):63-5, 1999.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Caliandra Maria Bezerra Luna Lima
Rua Maria Liosa Fernandes, 30. Bessa
CEP 58037-735. João Pessoa-PB
e-mail: calilunlima@gmail.com