

RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analysis

CARTA DO PRESIDENTE/LETTER FROM THE PRESIDENT

- 123** Em defesa dos laboratórios clínicos
In defense of clinical laboratories
Aquino JL

EDITORIAL/EDITORIAL

- 124** Apologia do otimismo para tempos difíceis
Apology of optimism for hard times
Neufeld PM

ARTIGO DE REVISÃO/REVIEW

- 126** Alfa-Talassemias: aspectos moleculares e diagnóstico
Alpha-Thalassemias: molecular aspects and diagnosis
Matos JF, Fernandes AP, Alves MT, Dusse LM, Borges KB, Carvalho MG

ARTIGO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

- 133** Avaliação do desempenho do equipamento de hematologia Sysmex XE2100D em um laboratório municipal
Evaluation of the performance of the Sysmex XE2100D hematology equipment in a municipal laboratory
Lima KG, Werlang MC, Munhoz TP
- 141** Epidemiologia das infecções pulmonares diagnosticadas em ambiente hospitalar: um estudo retrospectivo
Epidemiology of pulmonary infections diagnosed in hospital environment: a retrospective study
Rocha ML, Dias VL
- 147** Comparação das equações MDRD e CKD-EPI na estimativa da taxa de filtração glomerular em pacientes diabéticos e hipertensos não diagnosticados com doença renal crônica atendidos em ambulatório de um hospital universitário
Comparing the equation MDRD & CKD-EPI in the estimate of glomerular filtration rate in diabetic and hypertensive patients not diagnosed with chronic kidney disease served in a outpatient university hospital
Felisberto M, Nesi V, Suldofski MT, Silva EA
- 153** Isolamento de bactérias potencialmente patogênicas em indivíduos da comunidade indígena Xavante do estado do Mato Grosso, Brasil
Isolation of potentially pathogenic bacteria of individuals from the Xavante indigenous community of Mato Grosso state, Brazil
Silva GMV, Nogueira JMR, Esteves WTC, Reis CMF, Barbosa AV, Vallim DC, Hofer EI, Araújo AJG
- 159** Determinação da atividade de colinesterase plasmática e eritrocitária após exposição aguda a organofosforados e carbamatos em agricultores do município de Chapada, RS
Determination of plasma and erythrocyte cholinesterase activity after acute exposure to organophosphates and carbamates in farmers from Chapada municipality, RS
Oliveira GH, Ehrhardt A
- 165** Marcadores bioquímicos de lesão do miocárdio como consequência do Infarto Agudo do Miocárdio: estudo exploratório
Biochemical markers to detection of Acute Myocardial Infarction: exploratory study
Rocha K

COMUNICAÇÃO BREVE/SHORT COMMUNICATION

- 170** Micose superficial em pacientes com *Diabetes Mellitus* atendidos em um ambulatório geral em Blumenau, SC
Superficial mycoses in patient with Diabetes Mellitus served in a general outpatient clinic in Blumenau, SC
Dahlke RJ, Botelho TK, Loch AP, Cordova CM
- 174** Influência da massa muscular e da atividade física nos níveis plasmáticos de creatinina
Influence of muscle mass and physical activity on creatinine plasma levels
Dusse LM, Faria VH, Coelho LA, Rios DR, Silva IF

RELATO DE CASO/CASE REPORT

- 178** Prevalência de *Streptococcus agalactiae* em gestantes da Grande Porto Alegre, RS: relato de caso
Prevalence of Streptococcus agalactiae in pregnant women of Porto Alegre, RS: case report
Nunes PR, Oliveira MS

- 181** INSTRUÇÕES AOS AUTORES / INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

RIBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analysis

Editor-chefe/Editor-in-Chief

Paulo Murillo Neufeld (RJ)

Editores Eméritos/Honorary Editors

Mateus Mandu de Souza (RJ)

Editores Associados/Associate Editors

Mauren Isfer Angebem Oliveira (PR)

Paulo Jaconi Saraiva (RS)

Lauro Santos Filho (PB)

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

Publicação Trimestral/Quarterly Publication

Assinatura anual/Annual Subscription
R\$ 195,00

Assinatura Internacional
Foreign Annual Subscription
US\$ 48,00

Produção Editorial e Gráfica/Publisher
Trasso Comunicação Ltda

Tiragem/Circulation
5.200 exemplares/Copies

SBAC

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

DIRETORIA EXECUTIVA / EXECUTIVE BOARD

Jerolino Lopes Aquino (MT)
Presidente/President

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

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

Luiz Roberto dos Santos Carvalho (BA)
Secretário/Secretary

Estevão José Colnago (RJ)
Tesoureiro/Treasurer

Marcos Kneip Fleury (RJ)
Tesoureiro Adjunto/Assistant Treasurer

Conselho Fiscal/Fiscal Board Titulares / Holders

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

Suplentes/Alternates

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

Diretor Executivo/ Director Executive
Luiz Fernando Barcelos (RS)

Endereço para correspondência/Editorial Office

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

Afiliações/Affiliations



Comitê Editorial/Editorial Board

Bioquímica Clínica/Clinical Biochemistry

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

Citologia Clínica/Clinical Cytology

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

Controle de Qualidade/Quality Control

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

Endocrinologia/Endocrinology

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

Toxicologia/Toxicology

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

Microbiologia Clínica/Clinical Microbiology

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

Imunologia Clínica/Clinical Immunology

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

Parasitologia Clínica/Clinical Parasitology

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

Micologia Clínica/Clinical Mycology

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

Biologia Molecular/Molecular Biology

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

Hematologia Clínica/Clinical Hematology

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

Entidades mantidas pela SBAC Entities maintained by the SBAC

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

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

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

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

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

Comissões Institucionais/ Institutional Commissions

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

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

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

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

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



Jerolino Lopes Aquino

Em defesa dos laboratórios clínicos

In defense of clinical laboratories

“Enquanto o sol não brilha, acendamos uma vela na escuridão”

Confúcio

Prezados Amigos,

No dia 26 de novembro de 2015, às 09:00 horas, na Câmara dos Deputados, em Brasília, foi oficializada a **Frente Parlamentar em Defesa dos Laboratórios Clínicos** (FPDLAC), que terá como presidente o deputado federal Ronaldo Nogueira, do Partido Trabalhista Brasileiro (PTB) do Rio Grande do Sul. O apoio de 220 deputados que assinaram o documento que autorizou a criação da Frente foi decisivo. A Frente é uma reivindicação antiga dos laboratórios clínicos, tendo em vista que há 22 anos não há reajuste dos valores dos exames realizados para o Sistema Único de Saúde (SUS).

Esta coalização tem como objetivo reunir diferentes forças para atuar em benefício dos laboratórios clínicos no Congresso Nacional, fortalecendo e valorizando o segmento das análises clínicas no país, que conta, atualmente, com mais de 12 mil estabelecimentos. Essa união entre deputados, entidades de análises clínicas, conselhos profissionais, sindicatos e Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC) é histórica! Importa mencionar que a Frente foi lançada durante o 42º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, no Riocentro, no Rio de Janeiro, no mês de Junho de 2015.

Além da revisão da tabela do SUS, outros objetivos da Frente são a desoneração tributária, uma linha de crédito pelo BNDES e a quebra de monopólios e concentração de serviços para a rede pública. A desoneração tributária é fundamental porque os laboratórios de análises clínicas têm de 25% a 30% de seu faturamento mensal comprometido com mais de dez diferentes tributos. Uma linha de financiamento do BNDES é vital para a modernização do parque de equipamentos, principalmente, em pequenos e médios laboratórios, considerando a velocidade do desenvolvimento tecnológico do setor. A quebra de monopólios é de extrema importância para uma concorrência livre, desimpedida e leal.

A Frente, indubitavelmente, é uma ferramenta que nos ajudará a vencer o desequilíbrio entre a qualidade dos serviços de análises clínicas prestados ao SUS [e à população brasileira] e o reconhecimento que o segmento recebe do Estado. Não há como questionar a importância de nosso setor, pois cerca de 70% a 80% das decisões médicas se apoiam em resultados de exames produzidos pelos laboratórios de análises clínicas.

Confiante e com muita esperança no trabalho da Frente para a reversão do quadro de dificuldades por que passa o setor de análises clínicas, deixo meus votos de um **Feliz Ano de 2016** para todos aqueles que fazem das análises clínicas não só a sua profissão, mas seu ideal de vida.

Dr. Jerolino Lopes Aquino

Presidente da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC)

Apologia do otimismo para tempos difíceis

Apology of optimism for hard times

Acreditar, ter esperança, sonhar, olhar para frente, aceitar desafios... tudo isso faz parte de um grande e importante estimulador da vida: o otimismo.

Quanto à sua origem, o termo otimismo surgiu nos primeiros anos do século XVIII, em uma revista dirigida pelos Jesuítas de Trévoux, falando da Teodiceia, texto escrito por Gottfried Wilhelm Leibniz, filósofo alemão, em 1710, que defendia a ideia de que o mundo que existe é o melhor dos mundos possíveis de serem criados, onde até mesmo o mal contribui para o triunfo do bem.^(1,2)

O novo vocábulo, então, teve sucesso e Voltaire colocou-o como título num dos seus livros chamado *Cândido* ou *O Otimismo* (1756). Efetivamente, o conceito de otimismo ganhou significado e dimensão com Voltaire, filósofo iluminista francês do século XVIII, com enfoque nas emoções e no indivíduo.^(1,3)

De fato, o otimismo pode ser definido, atualmente, como um processo de avaliação dos resultados e conseqüências futuras, traduzindo-se numa expectativa geral de que o futuro irá ser positivo. Mehrabian⁽⁴⁾ definiu o otimismo como uma predisposição emocional e cognitiva para sentir e pensar que os aspectos positivos da vida prevalecem sobre os negativos.

Convocando o pensamento de Scheier e Carver,⁽⁵⁾ o otimismo encontra-se associado a variáveis pessoais, como a autoestima, o autoconceito, o *locus* de controle (percepção que o indivíduo tem sobre a fonte de seu controle sobre os acontecimentos em que está envolvido), a autoeficácia, o estilo de atribuição (modo como cada indivíduo atribui causas aos eventos que o rodeiam) e o neuroticismo (tendência dos indivíduos a um estado emocional negativo).

As pessoas que apresentam uma autoestima elevada, por exemplo, são mais prováveis de perspectivar o seu futuro de um modo positivo, de sentir confiança e otimismo acerca da realização dos seus objetivos e, por conseguinte, perseguir esses objetivos com dedicação.^(4,6)

Num estudo realizado por Fredrickson,⁽⁷⁾ verificou-se que as emoções positivas alargam horizontes e potenciam a capacidade para a resolução de problemas, ajudando os indivíduos a encontrarem recursos pessoais. Portanto, o otimismo pode ser o condição privilegiada para superar as dificuldades sociais de forma ativa e empreendedora. Isso é, se o indivíduo mantiver uma atitude positiva, acreditar na capacidade de superar as adversidades e pensar que tem um papel fundamental para alterar as eventualidades da vida terá iniciativa para procurar soluções.

Ter uma atitude otimista ajuda-nos, em termos pessoais [mas também profissionais], a acreditar e a desenvolver a capacidade de idealizar, construindo uma visão que vai para além dos obstáculos. Permite-nos, assim, questionar sobre a realidade e considerar os problemas como desafios, transformando as dificuldades em potencialidades de crescimento e autoconhecimento.⁽⁸⁾

Em relação às empresas, o otimismo tem sido alvo de atenção e motivo de estudo do comportamento organizacional, notadamente do Comportamento Organizacional Positivo (COP). De acordo com Luthans,⁽⁹⁾ de todos os conceitos representativos do COP – confiança, esperança, otimismo, felicidade e inteligência

emocional – o otimismo é descrito como o seu cerne, pois trata-se de um elemento de relevo com forte contribuição para o ambiente organizacional, já que os indivíduos otimistas tendem a ser mais cooperativos no trabalho e a promover a criação de capital social.⁽¹⁰⁾

Nas organizações, o otimismo é também referido como um fator motivado e motivador, estando estreitamente relacionado com uma liderança favorável.⁽⁹⁾ Segundo Rego & Cunha,⁽¹¹⁾ uma liderança autêntica transmite autoestima e bem-estar psicológico que, por sua vez, são geradores de mais otimismo, confiança, esperança e resiliência, o que faz surgir níveis superiores de motivação, de desempenho e satisfação com o trabalho.

Luthans et al.⁽¹²⁾ referem que emoções positivas, como o otimismo, são benéficas no âmbito psicológico e, quando relacionadas com o ambiente de trabalho, permitem o crescimento profissional e o retorno dos investimentos realizados. Indivíduos otimistas inseridos em contextos organizacionais positivos podem ser a solução para transformar, de fato, as dificuldades em oportunidades, promovendo o desenvolvimento econômico e social das organizações.

REFERÊNCIAS

1. Figueiredo V. Seis Filósofos em Sala de Aula. São Paulo: Berlendis & Vertechia Editores, 2006.
2. Sita PC. Leibniz contra o vazio: A relação entre a teoria das substâncias e o conceito de espaço. São Carlos. Tese [Doutorado em filosofia] - Universidade Federal de São Carlos. 2010, 184p.
3. Voltaire FMA. Cândido. Tradução de Maria Ermantina Galvão. São Paulo: Martins Fontes, 1998.
4. Mehrabian A. Manual for the Self Esteem and Optimism-Pessimism Scales. California: University of California, 1998.
5. Scheier MF, Carver CS. Effects of optimism on psychological and physical well-being: Theoretical overview and empirical update. *Cognitive Therapy and Research*. 1992;16(216):201-28.
6. Huan VS, Yeo LS, Ang RP, Chong WH. The influence of dispositional optimism and gender on adolescents perception of academic stress. *Adolescence*. 2006;41(163):533-46.
7. Fredrickson BL. The value of positive emotions. *American Scientist*. 2003;91:330-5.
8. Palma PJ, Cunha MP, Lopes MP. Comportamento organizacional positivo e empreendedorismo: Uma influência mutuamente vantajosa. *Comport. Organ. Gest.* 2007;13,(1):93-114.
9. Luthans F. Positive organizational behavior: developing and managing psychological strengths. *Academy of Management Executive*. 2002;16(1):57-72.
10. Rego A, Sousa F, Marques S, Cunha MP. Authentic leadership promoting employees' psychological capital and creativity. *Journal of Business Research*. 2012;65:429-37.
11. Rego A, Cunha MP. Perceptions of authentizotic climates and employee happiness: Pathways to individual performance? *Journal of Business Research*. 2008; 61:739-52.
12. Luthans F, Youssef CM, Avolio BJ. *Psychological Capital: Developing the Human Competitive*. New York: Oxford University Press, 2006.

Paulo Murillo Neufeld, PhD

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

Alfa-Talasseмии: aspectos moleculares e diagnóstico

Alpha-Thalasseмии: molecular aspects and diagnosis

Januária Fonseca Matos¹

Ana Paula Salles Moura Fernandes²

Michelle Teodoro Alves³

Luci Maria Sant'Ana Dusse²

Karina Braga Gomes Borges²

Maria das Graças Carvalho²

Resumo

A α -talasseμία é um dos distúrbios da síntese de hemoglobina mais comuns no mundo, sendo causada, principalmente, por mutações deletionais nos genes α -globínicos. De acordo com o número de genes mutados que varia de um a quatro, a α -talasseμία pode ser dividida em quatro fenótipos: α -talasseμία silenciosa, traço α -talassêmico, Doença de HbH e hidropsia fetal, respectivamente. Segundo a literatura, a frequência de α -talasseμία no Brasil também é considerável, sendo de grande importância o diagnóstico correto deste distúrbio, que pode ser realizado com auxílio de exames convencionais que apresentam vantagens e desvantagens. Contudo, em alguns casos, principalmente nas formas menores da α -talasseμία, a confirmação diagnóstica só pode ser realizada através dos exames moleculares que, apesar de confirmatórios, não estão disponíveis em grande parte dos laboratórios de análises clínicas e, devido ao custo, não são acessíveis à população em geral.

Palavras-chave

Alfa-Talasseμία; Biologia molecular; Diagnóstico

INTRODUÇÃO

A α -talasseμία é um dos distúrbios da síntese de hemoglobina mais comuns no mundo.⁽¹⁾ No Brasil, alguns estudos já foram realizados para determinar a frequência da deleção de 3.7 Kb, principal mutação causadora de α -talasseμία, sendo encontrados valores entre 20% e 25% na população estudada.⁽²⁻⁴⁾ Entretanto, valores mais elevados (32,9%) já foram observados.⁽⁵⁾

Este distúrbio resulta da deficiência de um, dois, três ou quatro genes para síntese de cadeia α levando aos fenótipos de α -talasseμία silenciosa, traço α -talassêmico, Doença de HbH e hidropsia fetal, respectivamente. Na α -talasseμία ocorre uma síntese não balanceada de cadeias globínicas devido à deficiência da cadeia α , e as anormalidades hematológicas da doença refletem a extensão deste desequilíbrio.⁽⁶⁻⁸⁾ A diminuição da síntese das cadeias α -globínicas interfere na formação normal da HbA, gerando uma deficiência de hemoglobina em cada eritrócito. Além disso, o excesso de cadeias γ e β que formam os tetrâmeros instáveis γ_4 (Hb Bart's) e β_4 (HbH) se acumula nos eritrócitos, que são destruídos precoce-

mente na circulação. A Hb Bart's e HbH apresentam baixa afinidade pelo oxigênio não sendo, assim, hemoglobinas funcionais.^(9,10)

O diagnóstico da α -talasseμία pelos métodos convencionais, principalmente em suas formas menores, se torna mais complexo uma vez que este distúrbio não apresenta uma característica específica, como o aumento da HbA₂, que confirma a β -talasseμία menor; ou, em muitos casos, a α -talasseμία leva a discreto ou mesmo a um silencioso fenótipo que, não raras vezes, mimetiza sideropenia.⁽¹¹⁾ Desta forma, o correto diagnóstico da α -talasseμία é importante para evitar o tratamento errôneo com suplementos férricos na tentativa de normalizar a microcitose e, ainda, permitir que o paciente portador deste distúrbio seja encaminhado para aconselhamento genético. Recentemente, a pesquisa das mutações através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) permitiu a confirmação do diagnóstico de casos não esclarecidos pelos métodos convencionais.⁽¹²⁾

Todos os testes utilizados para o diagnóstico da α -talasseμία apresentam vantagens e desvantagens e a abordagem diagnóstica deve incluir uma combinação de

¹Doutora. Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG, e Instituto Federal Minas Gerais - IFMG – Campus Ouro Preto, MG – Professora.

²Doutora. Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG.

³Graduação. Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG.

Instituições: Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, MG, e Instituto Federal Minas Gerais – IFMG (Campus Ouro Preto) Ouro Preto, MG

Artigo recebido em 01/07/2013

Artigo aprovado em 20/04/2015

técnicas, já que nenhum método diagnóstico isoladamente é capaz de identificar todos os portadores.

ASPECTOS MOLECULARES DAS α -TALASSEMIAS

O complexo do gene alfa globínico inclui um gene embrionário ζ , um pseudogene ζ , uma duplicação dos genes α inativos (pseudogenes $\psi\alpha_2$ e $\psi\alpha_1$) e dois genes α globínicos ativos (α_1 e α_2) dispostos na ordem 5'- ζ - $\psi\zeta$ - $\psi\alpha_2$ - $\psi\alpha_1$ - α_2 - α_1 - 3' que ocupam aproximadamente 30 Kb do braço curto do cromossomo 16, na banda 16p13.3 (Figura 1). Uma vez que todo indivíduo possui dois cromossomos 16, há um total de quatro genes α globínicos funcionais ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$).^(13,14)

Os genes globínicos α_2 e α_1 estão localizados próximos ao fim do braço curto do cromossomo 16, em uma região que consiste de três segmentos duplicados (X, Y, Z) separados por regiões não homólogas I, II e III. Os genes α estão inseridos nas sub-regiões homólogas Z₂ e Z₁ e suas regiões codificantes são idênticas, levando à produção de cadeias globínicas iguais. As diferenças estruturais entre α_2 e α_1 se restringem apenas ao segundo íntron, à região 3' não traduzida (3'-UTR) e ao sítio poli-A.^(11,12) Os genes α compreendem 1 a 2 Kb, sendo divididos em três éxons separados por dois íntrons.⁽¹⁵⁾ As principais sequências reguladoras estão localizadas em um segmento de 24 Kb, das quais a principal se situa a -40 Kb da região de capeamento do gene ζ e é denominado HS-40.^(14,16) Embora os genes α_1 e α_2 codifiquem cadeias globínicas idênticas, o gene α_2 é responsável pela produção do dobro das cadeias globínicas quando comparado ao gene α_1 . Portanto, mutações no gene α_2 são mais comuns e levam a fenótipos mais graves.⁽¹⁷⁾

A deficiência da cadeia globínica α resulta de inativação parcial ou completa dos genes α globínicos

duplicados. Geralmente, a inativação parcial é proveniente de mutações não deletivas ou pequenas deleções que envolvem um dos genes α , sendo denominada α -talassemia-2 ou α^+ -talassemia, enquanto a completa inativação ocorre devido às deleções de ambos os genes α , originando a α -talassemia-1 ou α^0 -talassemia. A interação de α -talassemia-2 e α -talassemia-1 produz a doença de HbH, a forma clínica mais grave da α -talassemia compatível com a vida.^(8,18) Estas alterações dos genes globínicos α_2 e/ou α_1 causam uma redução ou mesmo uma completa supressão da síntese de cadeias globínicas α .⁽¹¹⁾

O número de genes globínicos α mutados está relacionado à ampla diversidade clínica observada nas α -talassemias, que varia de um traço talassêmico silencioso a grave anemia. A α -talassemia-2 heterozigota ($-\alpha/\alpha\alpha$) apresenta uma leve deficiência de cadeias α proveniente da presença de três genes funcionais, enquanto a α -talassemia-2 homozigota ($- \alpha/-\alpha$) e a α -talassemia-1 heterozigota ($--/\alpha\alpha$) têm uma deficiência moderada de cadeias α devido à presença de dois genes funcionais. Clinicamente, embora a deleção de um ou dois genes α resulte em microcitose e hipocromia, há pouca ou nenhuma anemia. Contudo, a doença de Hemoglobina H ($--/-\alpha$), resultado de uma combinação de uma α -talassemia-2 heterozigota e uma α -talassemia-1 heterozigota, apresenta uma significativa deficiência de cadeias α causada pela deleção de três genes. Os pacientes portadores de doença de Hemoglobina H apresentam índices eritrocitários bastante alterados e uma redução de 25% a 30% nos valores da hemoglobina e hematócrito.⁽¹²⁾ Carreadores heterozigotos de deleções causadoras de α -talassemia-1 possuem o potencial risco de gerarem filhos com doença de Hemoglobina H ou com hidropsia fetal.⁽¹⁷⁾

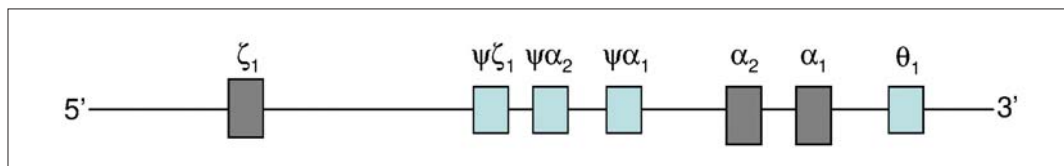


Figura 1. Complexo do gene alfa globínico (um gene embrionário ζ , um pseudogene ζ , uma duplicação dos genes α inativos (pseudogenes $\psi\alpha_2$ e $\psi\alpha_1$) e dois genes α globínicos ativos (α_1 e α_2).

PRINCIPAIS MUTAÇÕES CAUSADORAS DE α -TALASSEMIA

As α -talassemias resultam de mais de oitenta mutações nos genes α -globínicos.⁽¹⁹⁾ Ao contrário da β -talassemia, cujas mutações causadoras são principalmente mutações pontuais, a maioria dos defeitos

genéticos nas α -talassemias são deleções.⁽¹⁾ A heterozigose para a deleção de ambos os genes α ligados ($--/\alpha\alpha$), conhecida como α^0 -talassemia, causa anemia microcítica e hipocrômica discreta e assintomática. De forma contrária, a maioria dos carreadores de uma única deleção ($-\alpha/\alpha\alpha$) parece clinicamente e hematologicamente normal, embora, se considerados como um grupo,

tais indivíduos apresentem valores de VCM e HCM levemente reduzidos.⁽²⁰⁾

DELEÇÕES CAUSADORAS DE α^+ -TALASSEMIA OU α -TALASSEMIA-2

Dentre as deleções únicas do gene globínico α , a mais comum é a perda de um fragmento de 3.7 Kb ($-\alpha^{3.7}$), que inclui a porção final 3' do gene α_2 , a região intergênica α_2 - α_1 e a porção 5' inicial do gene α_1 , sendo produzida por um *crossing-over* desigual ocorrido entre as regiões homólogas Z_2 e Z_1 (*crossing-over* à direita). Os dois produtos desta recombinação são um gene α híbrido e um grupamento com o gene α triplicado $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti}}$.^(11,14)

Outra alteração comum é a deleção de 4.2 Kb ($-\alpha^{4.2}$)^(1,21) que também apresenta uma triplicação $\alpha\alpha\alpha^{4.2}$ correspondente à adição do segmento deletado. Esta deleção resulta de pareamento errôneo e recombinação entre sequências homólogas localizadas no segmento X (X_2 e X_1), afetando todo o gene α_2 .^(11,22)

DELEÇÕES CAUSADORAS DE α^0 -TALASSEMIA OU α -TALASSEMIA-1

Todas as deleções causadoras de α^0 -talassemias removem parcialmente ou completamente ambos os genes α e, portanto, não há síntese de cadeias α no cromossomo onde a deleção estiver presente. Tais deleções são caracterizadas pelo seu comprimento e local de descoberta.^(15,19,23)

A deleção $--^{SEA}$ é mais comumente encontrada no Sudeste da Ásia causando α^0 -talassemia. Esta deleção envolve uma região de aproximadamente 20 Kb e remove os genes $\psi\alpha_2$, $\psi\alpha_1$, α_2 , α_1 e q_1 . Outras deleções encontradas em populações asiáticas são $--^{THAI}$ e $-^{FIL}$, sendo particularmente longas.^(9,24)

Nos países do Mediterrâneo e em seus descendentes, os tipos delecionais mais comuns são $-(\alpha)^{20.5}$ e $--^{MED}$. A deleção $-(\alpha)^{20.5}$ remove uma região de 20.5 kb, enquanto $--^{MED}$ apresenta um ponto de quebra 5' na região 5'de $\psi\zeta_1$ e o outro 3' na região 5'de q_1 .⁽²⁴⁻²⁷⁾

DIAGNÓSTICO

Hemograma

A hidropsia fetal é caracterizada por uma grave anemia hemolítica com níveis de hemoglobina inferiores a 6 g/dL e o filme sanguíneo revela acentuada anisopoiquilocitose e presença de eritroblastos.^(23,28) A deficiência de três genes (Doença da Hemoglobina H, $-\alpha/--; \alpha^T\alpha/--, \alpha\alpha^T/--$), cursa com anemia microcítica (VCM diminuído) moderada ou grave, apresentando níveis de hemoglobina entre 8 g/dL a 10 g/dL e pode requerer transfusões

periódicas. No filme sanguíneo de portadores da Doença de HbH é possível observar microcitose, hipocromia, poiquilocitose (Figura 2) com presença de hemácias em alvo.

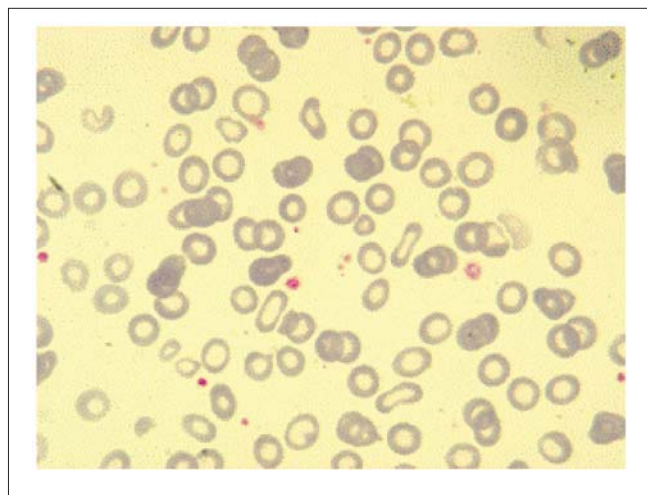


Figura 2. Filme sanguíneo de indivíduo portador de Doença de HbH após coloração com May Grunwald-Giemsa mostrando hemácias microcíticas e poiquilocitose (100x).

Em geral, a anemia em pacientes com Doença de HbH devido à deleção de dois genes α -globínicos associada a uma mutação não delecional é mais grave que a anemia de um paciente que apresenta três deleções. A deleção de dois genes (α -/ α - ou $-\alpha/$ - α ; $--/\alpha\alpha$ ou $\alpha\alpha/--$) da cadeia α globínica produz microcitose, hipocromia e poiquilocitose leves, elevadas contagens de hemácias com uma concentração de hemoglobina normal ou discretamente diminuída. Na deficiência de um gene (α -/ $\alpha\alpha$ ou $-\alpha/\alpha\alpha$, $\alpha\alpha/$ - α ou $\alpha\alpha/\alpha$ -), a dosagem de hemoglobina é normal e o VCM normal ou discretamente diminuído (forma silenciosa).^(13,28-34) Contudo, mesmo dentro de um determinado genótipo, ocorre uma variação do grau de anemia, um fenômeno ainda não bem compreendido.⁽⁹⁾

Contagem de reticulócitos

Na α -talassemia, devido a menor síntese de cadeias α , ocorre um excesso de cadeias não- α que se tetramerizam formando a HbH (β_4) ou Hb Bart's (γ_4). A precipitação das cadeias globínicas em excesso danifica a membrana eritrocitária, levando à destruição prematura das hemácias e, conseqüentemente, aos processos hemolíticos característicos das talassemias. A anemia hemolítica que se instala estimula a produção de eritropoetina com conseqüente hiperplasia da medula óssea na tentativa de aumentar a produção de eritrócitos, elevando, finalmente, a contagem de reticulócitos.^(14,22,35,36)

Desta forma, a contagem de reticulócitos auxilia o diagnóstico laboratorial da anemia microcítica e hipocromica. A contagem de reticulócitos nas talassemias é elevada e proporcional ao grau de hemólise.^(29,35) Nas

talassemias alfa e beta menor é comum observar discreta reticulocitose (>2,5% a 3,5%).⁽³⁷⁾

Eletroforese de hemoglobina

A eletroforese de hemoglobina é amplamente utilizada para a classificação das talassemias.⁽³⁸⁾ No caso da α -talassemia, tal exame mostra diminuição variável das hemoglobinas normais (A, A₂ e F), de acordo com o comprometimento da capacidade de síntese de cadeia α . Nos indivíduos adultos, uma banda de migração rápida, correspondente ao tetrâmero de cadeias β (HbH), é visível nos casos mais graves. Na deficiência de quatro genes (Hidropsia fetal) é mantida a síntese de hemoglobina embrionária (Portland) e aparece uma banda de migração rápida correspondente às cadeias γ (Hb Bart's). Na hidropsia fetal, a Hb Bart's corresponde a 97% e a HbH a 3%. A hemoglobina Bart's (tetrâmeros γ_4) é encontrada nas primeiras semanas de vida enquanto a hemoglobina H (tetrâmeros β_4) pode ser observada em pacientes adultos.^(32,33) No período neonatal, o portador silencioso tem 1% a 2% de Hb Bart's enquanto o indivíduo portador de traço α -talassêmico, 5% a 10%. No indivíduo adulto portador de Doença de HbH ocorre predomínio da HbA com 10% a 30% de HbH (Figura 3).⁽³³⁾

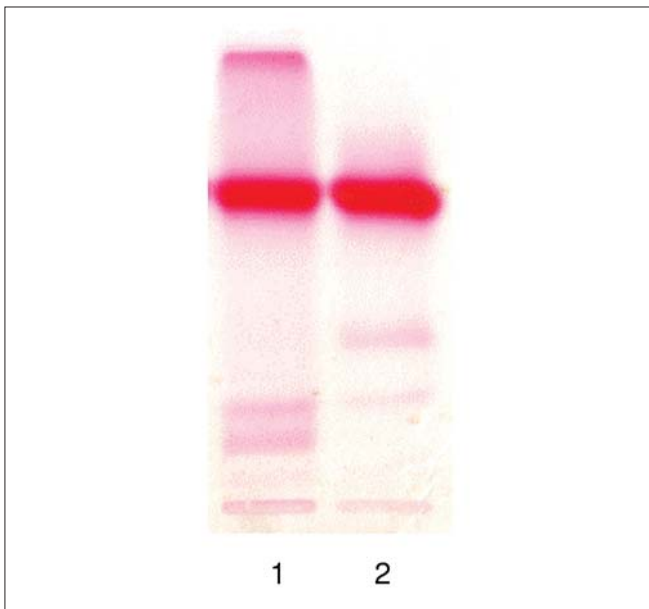


Figura 3. Eletroforese em pH alcalino de hemolisado de indivíduo portador de Doença de HbH (corrida eletroforética 1) e Perfil eletroforético normal (corrida eletroforética 2).

A eletroforese em acetato de celulose em pH alcalino é a metodologia mais utilizada para rastreamento inicial e detecção de hemoglobinas variantes por ser rápida, reprodutível e capaz de separar as hemoglobinas variantes comuns, como HbS, F A e C. Contudo, metodologias complementares devem ser realizadas para caracterização

de hemoglobinas com migração semelhante que não conseguem ser diferenciadas como HbS, D, G e outras. Conseqüentemente, é necessária a realização de eletroforese em ágar citrato em pH ácido, que também não é capaz de separar algumas hemoglobinas.^(39,40)

Pesquisa de HbH

Outro método diagnóstico para as α -talassemias é a pesquisa de HbH. A HbH é uma hemoglobina instável que se precipita nos eritrócitos, podendo ser visualizada após coloração vital como pequenos pontos azulados dispostos de forma homogênea (Figura 4). Contudo, esta técnica apresenta baixa sensibilidade para o traço α -talassêmico, devendo ser utilizada apenas como um teste confirmatório e não como um método de rastreamento da α -talassemia.⁽⁴¹⁾ O número de hemácias com inclusões de HbH é influenciado pelo genótipo da α -talassemia, sendo mais elevado em síndromes com um maior excesso de cadeias β .⁽⁴²⁾ A observação de corpos de inclusão de HbH requer prática do analista e tempo disponível, além do fato de que formas diferentes da α -talassemia podem mostrar padrões de precipitação também diferentes: as hemácias com corpos de inclusão aparecem ocasionalmente (uma a duas hemácias em aproximadamente 10 campos no aumento de 1000X) em carreadores de genótipo $-/\alpha\alpha$ e de mutações não deletionais. Já em pacientes com doença de HbH, podem ser visualizados numerosos eritrócitos com precipitados de HbH.^(8,43) Assim, a ausência desses corpos não exclui a α -talassemia, uma vez que, mesmo em indivíduos com deleção de dois genes α , apenas uma ou duas inclusões podem ser observadas após uma rigorosa busca.⁽⁴⁴⁾

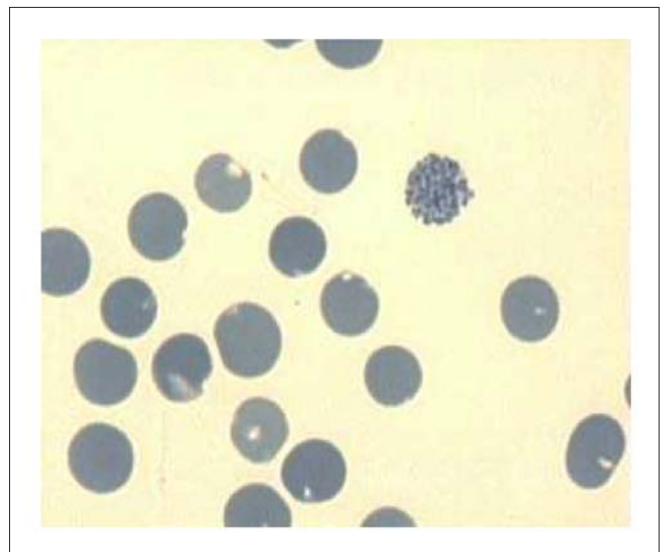


Figura 4. Filme sanguíneo de indivíduo portador de Doença de HbH após coloração com azul de cresil brilhante (100x). Pode ser visualizada uma hemácia com precipitados finos dispostos de forma homogênea (ao alto, à direita).

Contudo, a pesquisa de HbH, quando utilizada em conjunto com um VCM diminuído (inferior a 82 fL), continua tendo grande importância no diagnóstico de α^0 -talassemia em laboratórios onde métodos utilizando PCR não estão disponíveis.⁽⁴⁵⁾

HPLC

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é utilizada como método de rastreio e também para a confirmação, com alta sensibilidade e especificidade, de hemoglobinopatias em recém-nascidos.⁽⁴⁶⁾ Os procedimentos de triagem têm a sensibilidade para a detecção de um número limitado de variantes principais, porém é um método rápido, característica importante quando se analisa grande número de amostras. No entanto, a HPLC não tem a resolução necessária para diferenciar algumas variantes de hemoglobina comumente encontradas, tais como E e Lepore de HbA₂ e D de G, além de não possuir sensibilidade suficiente para detectar aquelas hemoglobinas com baixa concentração.⁽³⁹⁾

A HPLC não é capaz de identificar e quantificar precisamente as Hb Bart's e H, contudo, Melo et al.⁽⁴⁷⁾ observaram um aumento percentual médio estatisticamente significativo de frações com baixo tempo de eluição, como o pico identificado como "Fast", nos cromatogramas de amostras com suspeita de α -talassemia. Tal observação auxiliou no direcionamento das análises, permitindo uma cuidadosa pesquisa nos testes específicos para identificação de α -talassemia heterozigótica.

Apesar da HPLC conseguir detectar a hemoglobina Bart's (γ_4), um estudo comparativo utilizando técnicas moleculares ainda não foi realizado para uma padronização segura do diagnóstico das α -talassemias.⁽⁴⁸⁾

Avaliação da relação entre a síntese das cadeias alfa/beta

O diagnóstico da α -talassemia também pode ser realizado através da avaliação da relação entre a síntese de cadeias α/β , que revela uma diminuição na razão $\alpha:\beta$.⁽²⁹⁾ A aferição da síntese de cadeias globínicas e a determinação da relação α e β constituem o método mais direto para o diagnóstico de α -talassemia, uma vez que avaliam a síntese proteica.⁽⁸⁾

O procedimento foi inicialmente descrito por Weatherall et al.⁽⁴⁹⁾ e consiste em vários passos, incluindo remoção de leucócitos, enriquecimento de reticulócitos, síntese de cadeias globínicas *in vitro* na presença de leucina radioativa, separação destas cadeias α e β globínicas recém-sintetizadas por cromatografia e quantificação do sinal radioativo. Desta forma, o ritmo da síntese de cadeias globínicas é avaliado *in vitro* pela medida da velocidade de incorporação de um aminoácido radioativo, a leucina, nas diferentes cadeias, expresso pela relação

não- α/α . Nos indivíduos com genótipo $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ e nos portadores de outros tipos de anemia, a relação não- α/α é próxima a 1. Uma relação α/β inferior a 0,8 é indicativa de α -talassemia, sendo que valores de aproximadamente 0,75 são consistentes com a perda da expressão de um gene α -globínico ($-\alpha/\alpha\alpha$), 0,5 para dois genes α ($--/\alpha\alpha$) e 0,25 para três genes α ($--/-\alpha$). Na hidropsia fetal ($--/--$) ocorre uma completa ausência da síntese de cadeias α -globínicas.^(14,22,49-51)

Contudo, apesar da grande acurácia, a avaliação da síntese globínica apresenta a desvantagem de ser um método oneroso e de difícil realização, dificultando sua aplicação na rotina laboratorial.^(32,52)

Diagnóstico molecular

Em função da impossibilidade de detecção através de qualquer teste bioquímico convencional dos carreadores de α -talassemia que possuem um ou dois genes inativos,⁽⁵³⁾ tais formas da doença em adultos podem ser sugeridas pela presença de uma leve microcitose e hipocromia e níveis normais de HbA₂ e HbF, associados à ausência de deficiência do ferro. Entretanto, o diagnóstico preciso requer a demonstração de mutações nos genes α -globínicos detectáveis por métodos de biologia molecular; ou, ainda, por meio de estudos da síntese de cadeias globínicas mostrando uma diminuição na razão entre cadeias α e cadeias β .^(29,52)

Inicialmente, a caracterização molecular da α -talassemia era realizada utilizando-se a técnica de Southern blot, na qual são utilizadas sondas radioativas.^(21,24) Posteriormente, o uso de sondas não radioativas aumentou a segurança do procedimento; porém, a técnica de Southern Blot ainda permanecia trabalhosa, cara e demandava tempo.⁽⁴⁵⁾

Entretanto, o advento da reação em cadeia da polimerase (PCR) revolucionou a biologia molecular e tornou mais simples a detecção das mutações mais comuns da α -talassemia.⁽²⁴⁾ Realmente, a PCR é um método com menor custo, mais rápido, seguro e de mais fácil interpretação comparada à técnica de Southern blot.⁽²¹⁾

Atualmente, vários testes diagnósticos confiáveis e rápidos, utilizando PCR, têm sido desenvolvidos para a detecção das mutações mais comuns deletoriais e não deletoriais. A metodologia envolve desde a detecção de uma única ou de várias mutações simultaneamente (PCR Multiplex).^(11,21,54)

O diagnóstico genético da α -talassemia é importante não apenas para elucidar a patologia molecular da doença, mas também para a detecção do heterozigoto e realização do diagnóstico pré-natal em famílias que possuem risco de gerar indivíduos com doença de HbH e síndrome da hidropsia fetal.^(7,13) Quando ambos os pais são carreadores de duas deleções do gene α em *cis*($--/\alpha\alpha$), há 25% de

probabilidade do feto ser portador de quatro deleções e quadro clínico de hidropsia fetal (--/--).^(12,34)

A incidência relativamente alta do genótipo $-\alpha^{3,7}$ na população mundial e sua elevada frequência no Oriente Médio, África, Índia e outros países constitui um real problema para casais de risco, principalmente quando a frequência das outras mutações causadoras de α -talassemia-1 são também significativas.⁽⁶⁵⁾ Além disso, embora a anemia nos carreadores de α -talassemia esteja ausente ou seja discreta, é importante diagnosticá-la a fim de evitar análises laboratoriais repetidas e desnecessárias que são, muitas vezes, onerosas e o tratamento errôneo e desnecessário com suplementos férricos.^(7,45,53)

CONCLUSÃO

A α -talassemia apresenta elevada frequência na população brasileira. A microcitose/hipocromia, na presença de estoques de ferro e dosagem de HbA₂ normais são indícios da presença de α -talassemia. Sob a forte suspeita de α -talassemia levantada a partir da exclusão de β -talassemia e anemia ferropriva, a utilização de testes convencionais, incluindo a pesquisa de HbH, poderiam ser úteis. Todavia, o diagnóstico definitivo da α -talassemia em suas formas menores requer análise molecular para a detecção das mutações causadoras deste distúrbio.

Abstract

Alpha-Thalassemia is one of the most common disorders of hemoglobin synthesis in the world being mainly caused by deletions in α -globin genes. According to the number of mutated genes which ranges from one to four, α -thalassemia can be divided into four phenotypes: α -thalassemia silent, α -thalassemia trait, HbH disease and hydrops fetalis, respectively. According to the literature, the frequency of α -thalassemia in Brazil is also considerable whose correct diagnosis is very important and can be accomplished with the aid of conventional exams which have advantages and disadvantages. However, in some cases, especially in smaller forms of α -thalassemia, diagnostic confirmation can only be made by molecular techniques that although confirmatory are not available in most clinical laboratories, and because of the high cost they are not accessible to the general population.

Keywords

Alpha-Thalassemia; Molecular biology; Diagnosis

REFERÊNCIAS

- Garshasbi M, Oberkanins C, Law HY, Neishabury M, Kariminejad R, Najmabadi H. Alpha-globin gene deletion and point mutation analysis among in Iranian patients with microcytic hypochromic anemia. *Haematologica*. 2003;88(10):1196-97.
- Sonati MF, Farah SB, Ramalho AS, Costa FF. High prevalence of α -thalassemia in a black population of Brazil. *Hemoglobin*. 1991; 15(4):309-11.
- Souza AES, Cardoso GL, Takanashi SYL, Guerreiro JF. α -thalassemia (3.7 kb deletion) in a population from the Brazilian Amazon region: Santarém, Pará State. *Genet Mol Res*. 2009;8(2):477-81.
- Matos JF. Avaliação do desempenho de um novo índice na diferenciação entre anemia ferropriva e talassemias menores [tese]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2012. 154p.
- Bezerra CM. Diagnóstico molecular da talassemia α^+ (deleção $-\alpha^{3,7}$) em indivíduos com microcitose e/ou hipocromia atendidos no Hemocentro Dalton Barbosa Cunha em Natal, Rio Grande do Norte. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2010;32(1):90-1.
- Chen FE, Ooi C, Ha SY, Cheung BMY, Todd D, Liang R, et al. Genetic and clinical features of hemoglobin H disease in Chinese patients. *N Engl J Med*. 2000;343(8):544-50.
- Lafferty JD, Barth DS, Sheridan BL, Mcfarlane AG, Halchuk LM, Crowther MA. Prevalence of thalassemia in patients with microcytosis referred for hemoglobinopathy investigation in Ontario. *Am J Clin Pathol*. 2007;127(2):192-6.
- Harteveld CL, Higgs DR. α -Thalassaemia. *Orphanet J Rare Dis*. 2010;5(13):1-21.
- Singer ST. Variable clinical phenotypes of alpha-thalassemia syndromes. *Scientific World Journal*. 2009;9:615-25.
- Higgs DR, Weatherall DJ. The alpha thalassaemias. *Cell Mol Life Sci*. 2009;66(7):1154-62.
- Foglietta E, Deidda G, Graziani B, Modiano G, Bianco I. Detection of α -globin gene disorders by a simple PCR methodology. *Haematologica*. 1996;81(5):387-96.
- Tang DC, Fucharoen S, Ding I, Rodgers GP. Rapid differentiation of five common α -thalassemia genotypes by polymerase chain reaction. *J Lab Clin Med*. 2001;137(4):290-5.
- Waye JS, Chui DHK. The α -globin gene cluster: genetics and disorders. *Clin Invest Med*. 2001;24(2):103-9.
- Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. *Hematologia: Fundamentos e prática*. ed. rev. atual. São Paulo: Atheneu; 2005. 1081 p.
- Higgs DR, Vickers MA, Wilkie AO, Pretorius IM, Jarman AP, Weatherall DJ. A review of the molecular genetics of the human α -globin gene cluster. *Blood*. 1989;73(5):1081-104.
- Higgs DR, Wood WG, Jarman AP, et al. A major positive regulatory region located far upstream of the human α -globin gene locus. *Genes Dev*. 1990;4(9):1588-601.
- Chui DHK. Alpha-thalassaemia and population health in Southeast Asia. *Ann Hum Biol*. 2005;32(2):123-9.
- Shalmon L, Kirschmann C, Zaizov R. A new deletion α -thalassemia detected in Yemenites with hemoglobin H disease. *Am J Hematol*. 1994;45(3):201-4.
- Weatherall DJ. Phenotype-genotype relationships in monogenic disease: lessons from the thalassaemias. *Nat Rev Genet*. 2001;2(4):245-55.
- Viprakasit V, Ayyub H, May A. Dinucleotide deletion in $-\alpha^{3,7}$ allele causes a severe form of α^+ thalassaemia. *Eur J Haematol*. 2003;71(2):133-6.
- Chong SS, Boehm CD, Higgs DR, Cutting GR. Single-tube multiplex-PCR screen for common deletion determinants of α -thalassemia. *Blood*. 2000;95(1):360-2.
- Handin RJ, Lux SE, Stossel TP. *Blood: principles and practice of hematology*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003. 2304 p.
- Higgs DR. α -thalassaemia. *Baillieres Clin Haematol*. 1993;6(1):117-50.
- Kattamis AC, Camaschella C, Sivera P, Surrey S, Fortina P. The human α -thalassemia syndromes: detection of molecular defects. *Am J Hematol*. 1996;53(2):81-91.
- Orkin SH, Michelson A. Partial deletion of the α -globin structural gene in human α -thalassaemia. *Nature*. 1980;286(5772):538-40.
- Nicholls RD, Higgs DR, Clegg JB, Weatherall DJ. α^0 -thalassemia due to recombination between the α_1 -globin gene and an Alu I repeat. *Blood*. 1985;65(6):1434-8.
- Clark BE, Thein SL. Molecular diagnosis of hemoglobin disorders. *Clin Lab Haematol*. 2004;26(3):159-76.

28. Kohne E. Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. *Dtsch Arztebl Int.* 2011;108(31-32):532-40.
29. Hilliard LM, Berkow RL. The thalassemia syndromes. *Prim Care Update Ob Gyns.* 1996;3(5):157-62.
30. Bernini LF, Hartevelde CL. α -Thalassaemia. *Baillieres Clin Haematol.* 1998;11(1):53-90.
31. Clarke GM, Higgins TN. Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemias: review and update. *Clin Chem.* 2000;46(8):1284-90.
32. Sarnaik SA. Thalassemia and related hemoglobinopathies. *Indian J Pediatr.* 2005;72(4):319-24.
33. Marengo-Rowe AJ. The thalassemias and related disorders. *Proc (Bayl Univ Med Cent).* 2007;20(1):27-31.
34. Leung WC, Leung KY, Lau ET, Tang MHY, Chan V. Alpha-thalassaemia. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2008;13(4):215-22.
35. Lorenzi TF. Manual de Hematologia - Propedêutica e Clínica. 3rd ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2003. 655 p.
36. Urbinati F, Madigan C, Malik P. Pathophysiology and therapy for haemoglobinopathies. Part II: thalassaemias. *Expert Rev Mol Med.* 2006;8(10):1-26.
37. Naoum PC. Diagnóstico diferencial das anemias microcíticas e hipocrômicas. *Rev Bras Anal Clin.* 2011;43(2):160-2.
38. Pan LL, Eng HL, Kuo CY, Chen WJ, Huang HY. Usefulness of brilliant cresyl blue staining as an auxiliary method of screening for α -thalassemia. *J Lab Clin Med.* 2005;145(2):94-7.
39. Ou CN, Rognerud CL. Diagnosis of hemoglobinopathies: electrophoresis vs. HPLC. *Clin Chim Acta.* 2001;313(1-2):187-94.
40. Zamaro PJA, Canalli AA, Junior WAS, Domingos CRB. Diagnóstico laboratorial de hemoglobinas semelhantes à HbS. *J Bras Patol Med Lab.* 2002;38(4):261-6.
41. HartwellSK, Srisawang B, Kongtawelert P, Christian D, Grudpan K. Review on screening and analysis techniques for hemoglobin variants and thalassemia. *Talanta.* 2005;65(5):1149-61.
42. Skogerboe KJ, West SF, Smith C, Terashita ST, Lechrone CN, Detter JC, et al. Screening for alpha-thalassemia. Correlation of hemoglobin H inclusion bodies with DNA-determined genotype. *Arch Pathol Lab Med.* 1992;116(10):1012-8.
43. Naoum PC. Hemoglobinopatias e talassemias. 1a ed. São Paulo: Sarvier; 1997. 171 p.
44. Trent RJA. Diagnosis of the haemoglobinopathies. *Clin Biochem Rev.* 2006;27(1): 27-38.
45. Jones AKB, Poon A. Evaluation of a Single-Tube Multiplex Polymerase Chain Reaction Screen for Detection of Common alpha-Thalassemia Genotypes in a Clinical Laboratory. *Am J Clin Pathol.* 2002;118(1):18-24.
46. Lorey F, Cunningham G, Shafer F, Lubin B, Vichinsky E. Universal screening for hemoglobinopathies using high-performance liquid chromatography: clinical results of 2.2 million screens. *Eur J Hum Genet.* 1994;2(4):262-71.
47. Melo LMS, Siqueira FAM, Conte ACF, Domingos CRB. Rastreamento de hemoglobinas variantes e talassemias com associação de métodos de diagnóstico. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2008;30(1):12-7.
48. Ferraz MHC, Murao M. Diagnóstico laboratorial da doença falciforme em neonatos e após o sexto mês de vida. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007;29(3):218-22.
49. Weatherall DJ, Clegg JB, Naughton MA. Globin synthesis in thalassaemia: an *in vitro* study. *Nature.* 1965;208(5015):1061-5.
50. Clegg JB, Weatherall DJ. Haemoglobin synthesis in alpha-thalassaemia (haemoglobin H disease). *Nature.* 1967;215(5107):1241-3.
51. Giordano PC, Van Delft P, Batelaan D, Hartevelde CL, Bernini LF. Haemoglobinopathy analyses in the Netherlands: a report of an *in vitro* globin chain biosynthesis survey using a rapid, modified method. *Clin Lab Haematol.* 1999;21(4):247-56.
52. Eldibany MM, Totonchi KF, Joseph NJ, Rhone D. Usefulness of certain red blood cell indices in diagnosing and differentiating thalassemia trait from iron deficiency anemia. *Am J Clin Pathol.* 1999;111(5):676-82.
53. Sivera P, Roetto A, Mazza U, Camaschella C. Feasibility of molecular diagnosis of α -thalassemia in the evaluation of microcytosis. *Haematologica.* 1997;82(5):592-3.
54. Liu YT, Old JM, Miles K, Fisher CA, Weatherall DJ, Clegg JB. Rapid detection of α -thalassaemia deletions and α -globin gene triplication by multiplex polymerase chain reactions. *Br J Haematol.* 2000;108(2):295-9.
55. Baysal E, Huisman THJ. Detection of common deletion α -thalassaemia-2 determinants by PCR. *Am J Hematol.* 1994;46(3):208-13.

Correspondência

Januária Fonseca Matos

Universidade Federal de Minas Gerais

Av. Antônio Carlos, 6627 – Pampulha – Belo Horizonte, MG

Instituto Federal de Minas Gerais – Campus Ouro Preto

Rua Pandiá Calógeras, 898 – Bauxita

Ouro Preto, MG, Brasil

Avaliação do desempenho do equipamento de hematologia Sysmex XE2100D em um laboratório municipal

Evaluation of the performance of the Sysmex XE2100D hematology equipment in a municipal laboratory

Kelly Goulart Lima¹

Maria Cristina Werlang²

Terezinha Paz Munhoz³

Resumo

Objetivo: Validar o analisador hematológico Sysmex XE-2100D (Kobe, Japan), descrever as etapas do processo e avaliar seu desempenho antes da sua inserção na rotina de trabalho do Laboratório Municipal de Gravataí, RS. **Métodos:** O estudo foi realizado com 101 amostras de sangue total de pacientes adultos. Foram realizados quatro testes: precisão intraensaio, linearidade, exatidão e carregamento. **Resultados:** Os testes de precisão apresentaram resultados adequados para a maioria dos parâmetros. Somente a contagem absoluta de monócitos e a quantificação de plaquetas tiveram valores superiores aos preconizados em algumas amostras. O coeficiente de variação foi inferior a 1,5% para a série vermelha. Para linearidade, os coeficientes de correlação foram superiores a 0,99; no teste de exatidão, superiores a 0,98 para a maioria dos parâmetros, e o percentual de carregamento inferior a 1,0% para todos os parâmetros analisados. **Conclusão:** Ao se analisarem amostras com perfis semelhantes aos testados pelo fabricante, os resultados de precisão foram excelentes; entretanto, conforme esperado, as amostras com resultados alterados apresentaram coeficientes de variação maiores. Os resultados de precisão indicam a necessidade de outros estudos utilizando amostras com resultados fora do limite de normalidade para determinação do coeficiente de variação aceitável para esse tipo de amostra. Os resultados de linearidade, exatidão e carregamento foram semelhantes aos obtidos em outros estudos. Considerando os resultados obtidos, o equipamento foi aprovado para utilização no laboratório.

Palavras-chave

Estudos de Validação; Hematologia; Automação; Controle de Qualidade

INTRODUÇÃO

O hemograma completo é um dos exames mais solicitados no laboratório clínico, pois apresenta grande importância na avaliação geral do paciente, no auxílio ao diagnóstico, assim como no acompanhamento do tratamento de diversas doenças. Dentre as principais alterações, podemos citar as anemias por carência de nutrientes, anemias associadas a doenças crônicas, leucocitoses infecciosas e as leucemias.⁽¹⁾

O analisador Sysmex XE2100D (Kobe, Japan) é um contador totalmente automatizado, que utiliza como metodologia a citometria de fluxo com fluorescência, incorporada

a um instrumento de múltiplos canais que incluem laser, corrente contínua e corrente em radiofrequência. O equipamento dispõe de um total de 21 parâmetros do hemograma: contagem de leucócitos totais (WBC), percentual diferencial de leucócitos em cinco partes, quantificação de eritrócitos (RBC), quantificação de plaquetas (PLT), dosagem de hemoglobina (HGB), hematócrito (HCT), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), coeficiente de variação da distribuição de eritrócitos (RDWCV), desvio padrão da distribuição de eritrócitos (RDWSD) e volume plaquetário médio (VPM).^(1,2)

¹Mestre em Biologia Celular e Molecular. Farmacêutica do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Materno-Infantil Presidente Vargas (HMIPV). Porto Alegre, RS.

²Doutora em Gerontologia Biomédica. Professora Adjunta da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) e Coordenadora do Curso de Farmácia – Pelotas, RS.

³Doutora em Gerontologia Biomédica. Professora Adjunta na Faculdade de Farmácia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS e Chefe do Setor de Hematologia do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital São Lucas da PUCRS – Porto Alegre, RS.

Instituição: Laboratório Municipal de Gravataí – Gravataí, RS.

Artigo recebido em 28/04/2013

Artigo aprovado em 14/10/2015

Apesar dos atuais avanços tecnológicos dos sistemas analíticos e reagentes, os erros na fase analítica ainda representam de 13% a 32%, de acordo com estudos.⁽³⁾ As principais fontes de erros analíticos são: equipamentos, reagentes, interferentes, qualidade da água, temperatura ambiente, materiais de controle, calibradores e estabilidade da amostra.⁽⁴⁾ A identificação, redução ou eliminação desses erros é obtida através da aplicação de boas práticas nos laboratórios clínicos⁽⁵⁾ e validação dos equipamentos.

A validação analítica de equipamentos tem a finalidade de verificar se o instrumento funciona da forma adequada e se possui bom desempenho em relação a vários testes. Através dessa análise, é possível dimensionar os erros presentes e determinar com segurança se estes afetam ou não os resultados.⁽⁴⁾

O objetivo do presente estudo foi validar o analisador hematológico Sysmex XE2100D (Kobe, Japan), descrevendo as etapas do processo de validação e avaliação de desempenho, com base nas especificações da qualidade, visando à inserção do equipamento na rotina de trabalho do Laboratório Municipal de Gravataí, RS.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo de validação do equipamento Sysmex XE2100D (Kobe, Japan) foi realizado no Laboratório Municipal de Gravataí durante o mês de maio de 2012 e incluiu quatro testes: precisão intraensaio, linearidade, exatidão e carregamento. Foram incluídas 101 amostras de sangue total de forma randomizada, coletadas em tubo K3EDTA, de amostras já processadas no laboratório de outro hospital que utiliza o mesmo modelo de equipamento, em Porto Alegre, RS. As amostras foram analisadas em tubo primário no equipamento referência, em até duas horas após a coleta. Posteriormente, foram transportadas sob refrigeração (2°C a 8°C) por até duas horas, ao Laboratório Municipal de Gravataí, quando foram realizadas análises no equipamento teste.

As análises foram realizadas no modo fechado do equipamento, no qual a amostra é homogeneizada de forma automatizada, com exceção do teste de linearidade que foi realizado no modo aberto, devido a menor volume das amostras após o processo de concentração. No modo aberto, foi realizada homogeneização manual.

O equipamento referência e o outro em processo de validação já haviam sido calibrados e apresentaram resultados adequados no controle de qualidade diário. Os programas utilizados para cálculos e construção dos gráficos de dispersão foram SPSS versão 18.0 e o Microsoft Office Excel 2007.

Todos os testes foram realizados conforme protocolo de validação obtido no manual do fabricante,⁽²⁾ que utilizou como referência as orientações do *International Committee*

for Standardization in Hematology (ICSH). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (protocolo de pesquisa registro: CEP 11/05739).

Teste de Precisão Intraensaio

O estudo de precisão intraensaio foi realizado com sete amostras de perfis diferentes, selecionadas da seguinte forma: amostra 1 (resultados dentro dos valores de referência VR), amostra 2 (RBC, HCT e HGB abaixo do VR), amostra 3 (RBC, HCT e HGB acima do VR), amostra 4 (WBC acima do VR), amostra 5 (WBC abaixo do VR), amostra 6 (PLT acima do VR) e amostra 7 (PLT abaixo do VR). As amostras 1, 3 e 6 apresentaram perfis semelhantes aos testados pelo fabricante. Já as amostras 2, 4, 5 e 7 apresentaram perfis diferentes aos testados pelo fabricante para alguns parâmetros, não existindo limite publicado pelo mesmo para comparação, porém sua análise é relevante para determinar a "performance" do equipamento com amostras que apresentam resultados alterados. Após a seleção das amostras, foram analisadas dez replicatas de cada uma delas consecutivamente, com intervalo aproximado de dois minutos entre as determinações. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente durante as análises e foram determinados 21 parâmetros do hemograma. Posteriormente, foram calculados a média, o desvio padrão e o CV% para cada um dos parâmetros.

Teste de Linearidade

O estudo de linearidade foi realizado utilizando-se amostras previamente concentradas e posteriormente diluídas em uma série de concentrações (fatores de diluição: 1; 0,8; 0,6; 0,5; 0,4; 0,2 e 0,05), utilizando-se o reagente Cellpack como diluente. Para avaliação dos parâmetros RBC, HGB e HCT foi selecionada uma amostra de sangue total de paciente em tubo K3EDTA que apresentava hemoglobina de 12 g/dL a 15 g/dL. Para concentração da amostra, a mesma foi centrifugada por cinco minutos a 3.500 g e foram removidos 2/3 do plasma, sendo a amostra, posteriormente, homogeneizada dez vezes por inversão. Outra amostra de sangue total de paciente em tubo K3EDTA com contagem total de leucócitos de 50 a 70 x 10³/μL foi selecionada para avaliação da linearidade do WBC. A metade do volume de sangue foi transferida para outro tubo, o qual foi centrifugado por 15 minutos (1.500 g). Posteriormente foi transferida a "fração de leucócitos" deste tubo para o tubo primário não centrifugado do mesmo paciente, e a amostra foi homogeneizada dez vezes por inversão. A avaliação da linearidade da PLT foi realizada com uma amostra de sangue total de paciente em tubo K3EDTA com contagem total de plaquetas 700 x 10³/μL. A

metade do volume de sangue foi transferida para outro tubo, o qual foi centrifugado por 15 minutos (1.500 g), sendo, posteriormente, transferido o plasma rico em plaquetas para o tubo primário não centrifugado do mesmo paciente e a amostra homogeneizada dez vezes por inversão. Após esses procedimentos para concentração das amostras, foram realizadas as diluições com o reagente Cellpack, conforme orientações do fabricante.⁽²⁾ Todas as análises foram realizadas em duplicata. Para cada um dos estudos de linearidade foi calculada a média entre as duas medições e o valor de recuperação esperado. Em seguida, foram construídos gráficos de dispersão para avaliar a correlação e regressão linear. Também foram calculados os percentuais de diferença entre esses resultados.

Teste de Exatidão

O estudo de exatidão foi realizado através de análise de 101 amostras: aproximadamente 50% de amostras com resultados normais (dentro dos valores de referência para HGB, WBC e PLT), 25% com resultados reduzidos (abaixo dos valores de referência para HGB, WBC e PLT) e 25% com valores aumentados (acima dos valores de referência para HGB, WBC e PLT). Essas amostras foram analisadas em corridas analíticas diferentes, a primeira no equipamento referência já validado do Setor de Hematologia do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital São Lucas da PUCRS e a segunda analisada no equipamento teste do Laboratório Municipal de Gravataí. Após realização dos testes, foram construídos gráficos de dispersão para 16 dos 21 parâmetros. Foram calculados os coeficientes de correlação (r), coeficientes de determinação (r^2), coeficientes de correlação intraclasse (ICC) e percentual de diferença entre as análises da mesma amostra.

Teste de Carreamento

O estudo de carreamento foi realizado com seis amostras. Foi selecionada uma amostra com valores aumentados e outra com valores baixos para os parâmetros RBC, HGB e HCT. Para os parâmetros WBC e PLT também foram selecionadas amostras com contagens altas e baixas, com base nos valores de referência. A amostra com valores altos para RBC, HGB e HCT foi analisada três vezes consecutivas, nomeando-se os resultados das análises como (H1, H2 e H3). A amostra com valores baixos para os mesmos parâmetros foi analisada três vezes consecutivas, nomeando-se os resultados das análises como (L1, L2 e L3). Esse procedimento foi realizado para as amostras com contagens altas e baixas de WBC e de PLT.

O cálculo do carreamento foi realizado de acordo com a fórmula: $\text{carreamento (\%)} = (L1-L3)/(H3-L3) \times 100$.

RESULTADOS

Resultados do Teste de Precisão Intraensaio

As amostras 1, 3 e 6, que apresentaram perfis dentro dos limites testados pelo fabricante, mostraram adequado nível de precisão. Já as amostras com perfis de pacientes com resultados alterados (amostras 2, 4, 5 e 7) apresentaram alguns coeficientes de variação superiores, conforme esperado, pois tiveram contagens muito baixas para alguns parâmetros. Porém, para essas amostras, o fabricante não determinou os limites aceitáveis para comparação. Os resultados do CV% obtidos para alguns desses parâmetros foram: 10,5% para contagem de leucócitos totais de 447/ μL , 6,7% para quantificação de plaquetas de 15.000/ μL , 12,61% para contagem absoluta de neutrófilos de 225/ μL , 12,37% para contagem absoluta de linfócitos de 183/ μL , 105,41% para contagem absoluta de eosinófilos de 5/ μL , 51,05% para contagem absoluta de monócitos de 18/ μL e 129,1% para contagem absoluta de basófilos de 4/ μL . Considerando somente os parâmetros com perfis semelhantes aos testados pelo fabricante, duas amostras apresentaram CV% acima do preconizado: amostra 4 com CV% de 25,75% (limite 20%) para contagem absoluta de monócitos e amostra 7 com CV% de 6,70% (limite 4%) para a quantificação de plaquetas. Abaixo, é apresentada a Tabela 1, com os resultados obtidos com uma amostra dentro dos limites testados pelo fabricante.

Tabela 1 - Reprodutibilidade Intraensaio Amostra 1 (normal)

Parâmetro	Unidade	Média	DP	CV%	CV% aceitável
WBC	/ul	7522	148,80	1,99%	<= 3%
RBC	$\times 10^6/\text{ul}$	4,71	0,02	0,51%	<= 1,5%
HGB	g/dL	14,1	0,03	0,22%	<= 1,0%
HCT	%	43,2	0,21	0,48%	<= 1,5%
VCM	fL	91,6	0,21	0,23%	<= 1,0%
HCM	pg	30,0	0,20	0,65%	<= 1,5%
CHCM	g/dL	32,7	0,21	0,65%	<= 1,5%
PLT	$\times 10^3/\text{uL}$	205	3,47	1,69%	<= 4,0%
RDW-SD	fL	42,1	0,17	0,40%	<= 2,0%
RDW-CV	%	12,5	0,08	0,66%	<= 2,0%
VPM	fL	10,7	0,09	0,86%	<= 3,0%
NEUT	/uL	4167	92,62	2,22%	<= 8,0%
LINF	/uL	2646	52,96	2,00%	<= 8,0%
MONO	/uL	481	20,79	4,32%	<= 20%
EO	/uL	194	20,11	10,375%	<= 25%
BASO	/uL	34	5,16	15,19%	<= 40%
NEUT%	%	55,4	0,49	0,88%	<= 8,0%
LINF%	%	33,2	0,41	1,18%	<= 8,0%
MONO%	%	6,4	0,25	3,90%	<= 20%
RO%	%	2,6	0,25	9,71%	<= 25%
BASO%	%	0,4	0,05	11,74%	<= 40%

Resultados do Teste de Linearidade

O teste de linearidade apresentou ótima correlação, visto que o coeficiente de determinação (r^2) para todos os

parâmetros avaliados foi superior a 0,99. Os coeficientes de correlação obtidos foram: RBC ($r=0,997$), HGB ($r=0,998$), HCT ($r=0,998$), WBC ($r=0,998$) e PLT ($r=0,995$). A Figura 1 apresenta dois gráficos representativos.

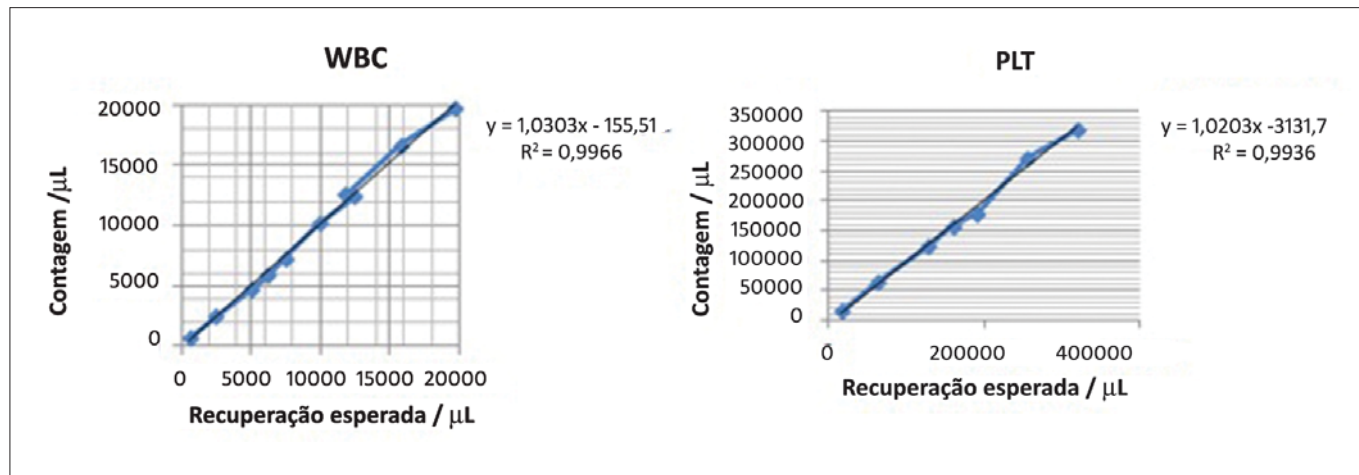


Figura 1. Estudo de Linearidade Série Branca e Plaquetas.

Resultados do Teste de Exatidão

Os resultados demonstraram uma ótima correlação entre os equipamentos, pois o coeficiente de correlação (r) foi superior a 0,94 em quase todos os parâmetros, com exceção do percentual de basófilos. Os resultados do r para NEUT% (percentual de neutrófilos), LINF% (percentual de linfócitos), MONO% (percentual de monócitos), EO% (percentual de eosinófilos) e BASO% (percentual de basófilos) foram todos excelentes, de acordo com os limites do fabricante. Os coeficientes de correlação intraclasse apresentaram resultados adequados, com intervalo de 95% de confiança. Além disso, determinamos o percentual de diferença entre os equipamentos para comparação com os limites preconizados

pelo fabricante. O teste de exatidão demonstrou percentual de diferença para os parâmetros RBC e PLT dentro do aceitável pelo fabricante, 0,84% e 1,97%, respectivamente. Já para o WBC foi observado valor um pouco superior ao preconizado, 3,7% (limite de + ou - 3%) entre os dois equipamentos. A diferença observada para o percentual de neutrófilos, linfócitos e monócitos foi adequada, apresentando 0,01% (limite + ou - 3%), 0,2% (limite + ou - 3%) e 1,78% (limite + ou - 2%) respectivamente. Já para o percentual de eosinófilos e basófilos foi superior ao preconizado, 2,34% (limite + ou - 1%) e 10,18% (limite + ou - 1%) respectivamente. Os valores obtidos são apresentados nas Tabelas 2 e 3.

Os gráficos de correlação e regressão linear são apresentados nas Figuras 2 e 3.

Tabela 2 - Análise da correlação e regressão linear no Teste de Exatidão para Série Vermelha

Parâmetro	Coefficiente / Correlação	Declividade [intervalo 95% confiança]	Intercepto [intervalo 95% confiança]
RBC	0,9988	1,015 [1,005;1,025]	0,089 [-0,129;-0,049]
HGB	0,9992	0,965 [0,958;0,973]	-0,023 [-0,116;0,070]
HCT	0,9988	1,021 [1,011;1,031]	-0,456 [-0,818;-0,095]
VCM	0,9915	1,041 [1,014;1,068]	-2,227 [-4,716;0,263]
HCM	0,9804	0,922 [0,885;0,959]	1,486 [0,355;2,617]
CHCM	0,9486	0,880 [0,821;0,938]	2,530 [0,569;4,491]
RDW-CV	0,9899	1,045 [1,015;1,075]	-0,592 [-1,031;-0,154]
RDW-SD	0,9952	1,085 [1,064;1,106]	-2,939 [-3,978;-1,900]

Tabela 3 - Análise da correlação e regressão linear no Teste de Exatidão para Série Branca e Plaquetas

Parâmetro	Coefficiente Correlação	Declividade [intervalo 95% confiança]	Intercepto [intervalo 95% confiança]
WBC	0,9985	1,034 [1,022;1,045]	10,772 [-109,5;131,021]
NEUT	0,9989	1,036 [1,026;1,046]	-20,262 [-98542;58,018]
LINF	0,9933	1,054 [1,030;1,079]	-27,231 [-74,516.20,055]
MONO	0,9815	1,077 [1,035;1,118]	-18,003 [-50,970;14,964]
EO	0,9981	1,039 [1,026;1,051]	-0,695 [-6,136;4,746]
BASO	0,9417	0,581 [0,540;0,623]	15,399 [12,264;18,534]
NEUT%	0,9949	1,002 [0,981;1,022]	-0,104 [-1,505;1,298]
LINF%	0,9859	0,970 [0,937;1,003]	0,579 [-0,221;1,380]
MONO%	0,9522	0,954 [0,893;1,015]	0,444 [-0,084;0,972]
EO%	0,9964	1,004 [0,987;1,021]	-0,029 [-0,111;0,053]
BASO%	0,8128	0,627 [0,538;0,717]	0,147 [0,097;0,198]
PLT	0,9951	1,017 [0,997;1,038]	563,142 [-4414,590;5540,873]
VPM	0,9473	1,071 [0,998;1,144]	-0,440 [-1,227;0,347]

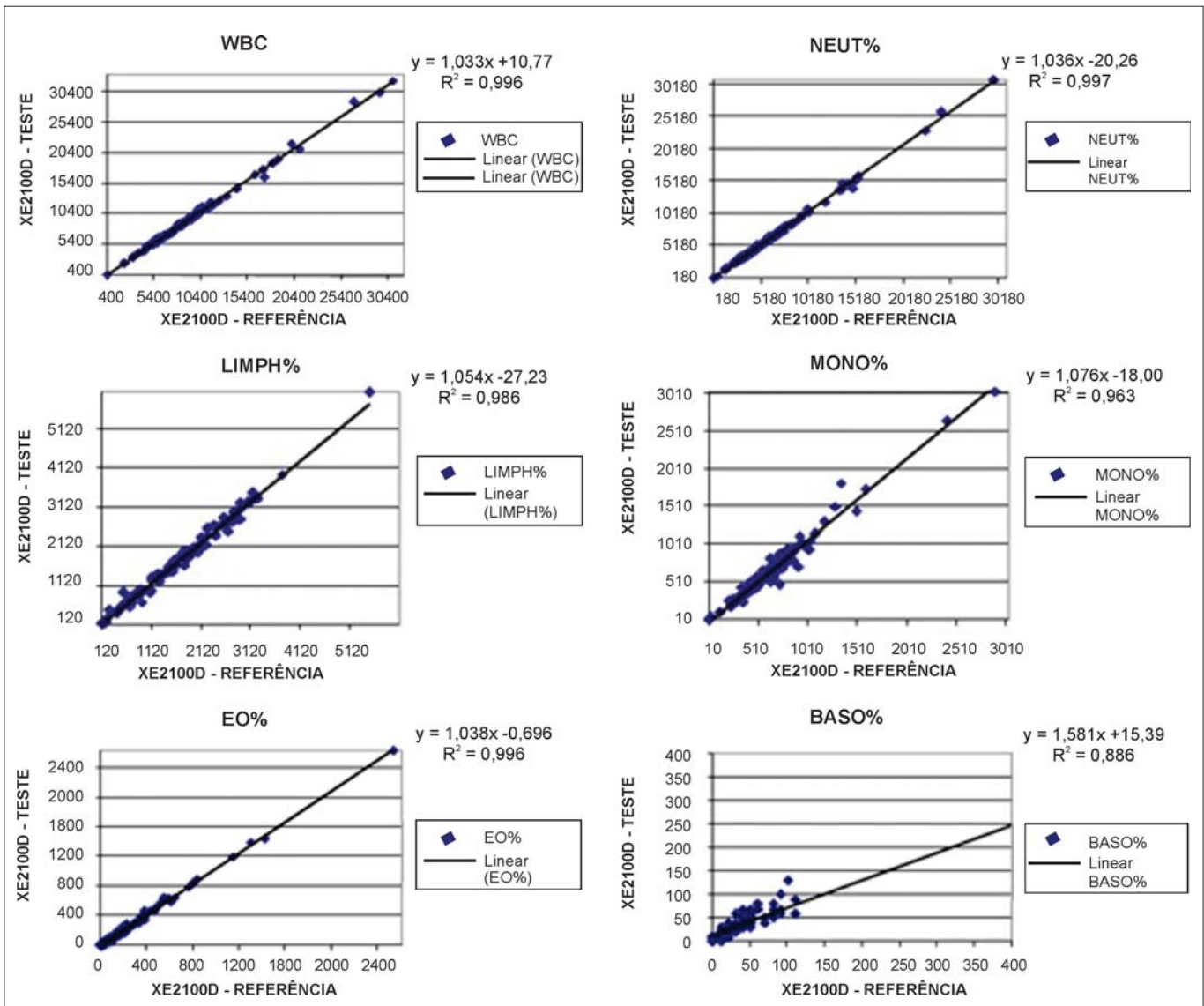


Figura 2. Correlação e regressão linear entre os analisadores (Equipamento Referência x Teste) para a contagem absoluta de leucócitos totais e diferencial.

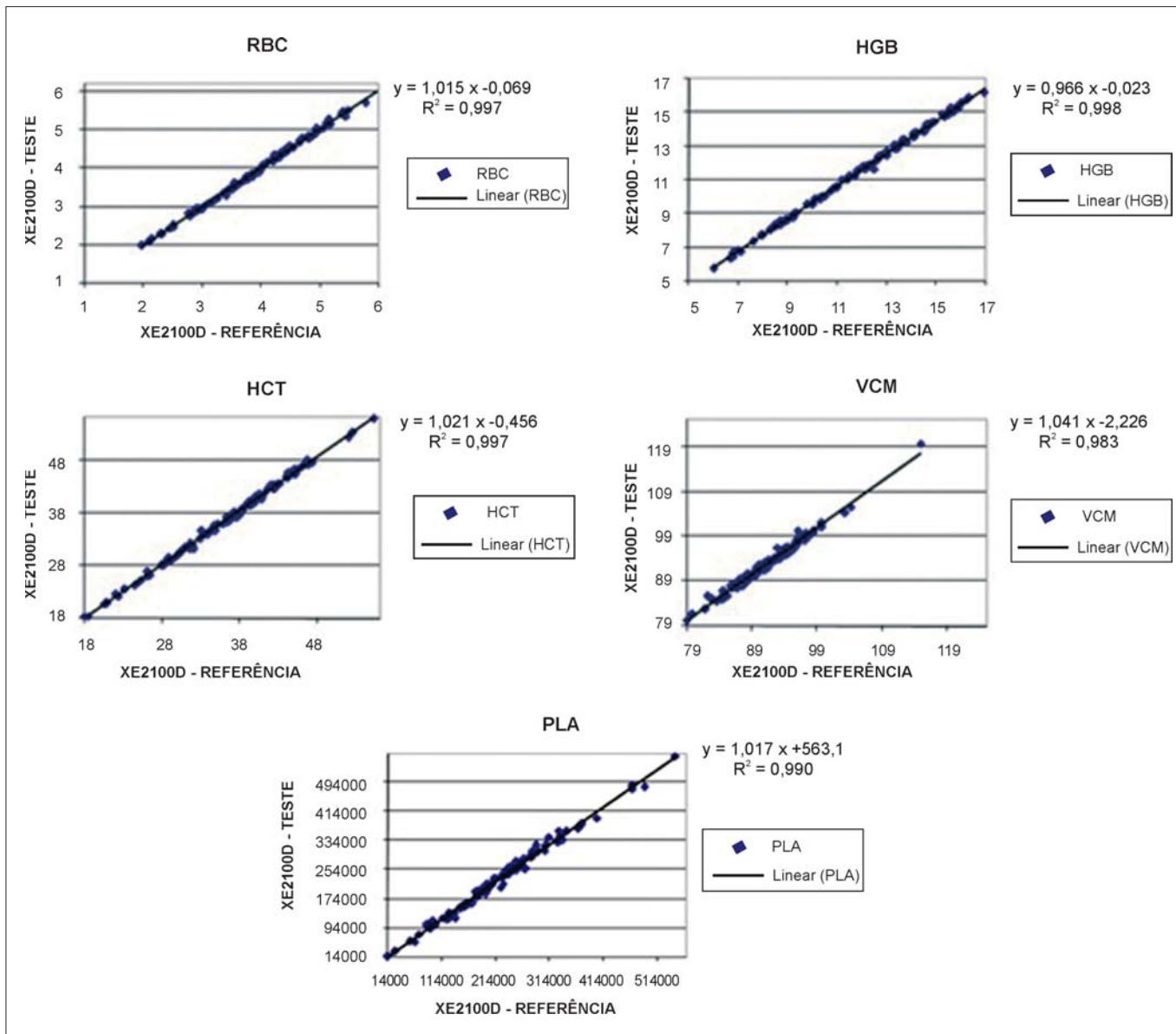


Figura 3. Correlação e regressão entre os analisadores (Equipamento Referência x Teste) para os parâmetros da Série Vermelha e Plaquetas.

Resultados do Teste de Carreamento

O percentual de carreamento obtido para cada um dos parâmetros foi: 1,00% para WBC, 0,30% para HCT e 0% para RBC, HGB e PLT.

DISCUSSÃO

Os resultados do teste de precisão intraensaio foram considerados excelentes para as três amostras de perfis semelhantes aos testados pelo fabricante (amostras 1, 3 e 6), visto que todos os coeficientes de variação foram inferiores aos limites preconizados. Os coeficientes de variação obtidos são em sua maioria inferiores aos apresentados no estudo de Grillone et al.,⁽⁶⁾ com exceção

dos parâmetros WBC, contagem absoluta de neutrófilos, contagem absoluta de linfócitos e contagem absoluta de monócitos, os quais foram um pouco superiores, porém ainda dentro do limite aceitável determinado pelo fabricante.

Ao se analisarem outras amostras de diferentes perfis, dois parâmetros (um de cada amostra) apresentaram coeficiente de variação superior ao esperado. A amostra 4 (WBC alta) apresentou CV% de 25,75% para MONO (limite 20%), o que provavelmente sofreu influência da baixa contagem de monócitos na amostra, porém esse resultado não seria prejudicado visto que a contagem alta de leucócitos seria conferida em análise do esfregaço pelo analista clínico. Já a amostra 7 (PLT baixa) apresentou

CV% de 6,70% para o PLT (limite 4%), possivelmente por influência da baixa contagem ou a presença de macroplaquetas. Outro estudo que avaliou a precisão intraensaio em amostra com baixa contagem de plaquetas observou CV% abaixo de 5,0% para PLT, um pouco inferior ao nosso achado, porém justifica-se pelo estudo ter sido realizado com equipamento de fabricante diferente.⁽¹²⁾

Ao se analisarem três perfis de amostras com resultados fora da normalidade, observou-se maior coeficiente de variação para vários parâmetros, conforme esperado, pois essas amostras apresentavam contagens extremamente baixas. Para alguns parâmetros, não foi possível comparar os resultados aos limites fornecidos pelo fabricante, como ocorreu, por exemplo, com a amostra 5 (contagem de WBC extremamente baixa de 447/ μ L). O fabricante determinou um CV aceitável de 3% para WBC, porém a contagem total de leucócitos deveria ser superior a 4.000/ μ L, não sendo possível utilizar esse limite para a amostra com contagem de 447/ μ L leucócitos. A inclusão dessas amostras no estudo foi importante para determinar a "performance" do equipamento também para resultados alterados, podendo servir como referência para estudos posteriores.

Comparando-se os resultados deste estudo com os obtidos por de Jonge R et al.⁽⁷⁾ e Gould et al.,⁽⁸⁾ que avaliaram o mesmo modelo de equipamento, observam-se resultados semelhantes de CV entre os três estudos para os parâmetros RBC e HCT. Para os parâmetros WBC e NEUT%, os resultados foram semelhantes somente ao estudo de de Jonge R et al.,⁽⁷⁾ e, para VCM e RDWSD, os CV foram semelhantes somente ao estudo de Gould et al.⁽⁸⁾ Comparando-se os dois estudos ao mesmo tempo, obtivemos valores de CV inferiores aos observados para os parâmetros HGB, PLT, LINF e BASO, demonstrando uma melhor performance do equipamento estudado para esses parâmetros. Para o CHCM obtivemos CV de 0,65, maior ao encontrado nos dois estudos; entretanto, nossos resultados encontram-se dentro dos limites aceitáveis pelo fabricante para esse parâmetro, utilizando-se, para comparação, amostra com perfil semelhante.^(7,8)

A avaliação da linearidade foi excelente para todos os parâmetros observados, visto que todos os coeficientes de correlação foram superiores a 0,995. Nossos resultados são semelhantes aos encontrados por outros pesquisadores que utilizaram equipamento Sysmex ou de outro fabricante.^(6,9,12) Foi possível representar todo o intervalo de linearidade do equipamento somente para o parâmetro RBC (08×10^6 / μ L), pois os intervalos são bastante amplos e são raros os casos de amostras com contagens ou dosagens excessivamente altas para possibilitar essa verificação. Apesar disso, foram utilizados no mínimo 7 pontos no gráfico, seguindo recomendação do fabricante para utilizar no mínimo 5 pontos.

Os resultados obtidos no teste de exatidão demonstraram uma boa correlação entre o equipamento referência e o equipamento em teste, visto que foram obtidos coeficientes de correlação superiores a 0,98 para a maioria dos parâmetros (16 deles). Além disso, os coeficientes de correlação intraclasse também foram satisfatórios considerando um intervalo de confiança de 95%. Comparando com os resultados preconizados pelo fabricante (valores informados somente para o diferencial percentual de leucócitos), nossos resultados ficaram todos dentro dos limites aceitáveis. Ao se analisarem outros estudos, foram observados coeficientes de correlação semelhantes do estudo de Shu et al.⁽¹²⁾ e de de Jonge R et al.⁽⁷⁾ aos achados deste estudo. Outros estudos encontraram coeficientes de correlação inferiores aos nossos, porém é justificável devido às pesquisas terem sido realizadas com equipamentos de fabricantes distintos, os quais utilizam metodologias diferentes.^(6,13) Os resultados do carregamento foram adequados para todos os parâmetros avaliados, pois foram iguais ou inferiores a 1%, conforme preconizado pelo fabricante. Esses resultados são semelhantes aos encontrados em outros estudos.^(7,8,10)

CONCLUSÃO

Ao se analisar o conjunto de resultados dos testes de validação realizados, pode-se concluir que o equipamento em teste foi considerado aprovado, pois apresenta nível adequado de precisão, exatidão, linearidade e carregamento, podendo ser utilizado com segurança e confiabilidade.

Abstract

Objective: Validate the Sysmex XE-2100D (Kobe, Japan) hematological analyzer, describe the steps of the process and evaluate its performance, before it started to be operated on a daily basis at the Municipal Laboratory of Gravataí, RS. **Methods:** This study was performed with 101 whole blood samples of adult patients. Four kinds of tests were carried out: intra-assay precision, linearity, accuracy and carryover. **Results:** The precision tests showed proper results for most parameters. Only the absolute count of monocytes and quantifying platelet has higher values than recommended, in some samples. The variation coefficient was less than 1.5% for the red series. For linearity, the correlation coefficients were higher than 0.99; in the accuracy test, higher than 0.98 for most parameters and the percentage of carryover less than 1.0% for all parameters analyzed. **Conclusion:** By analyzing samples with similar features to those tested by the manufacturer, the precision results were excellent; however, as expected, samples with abnormal results showed higher variation coefficients. Precision data indicate the need for further studies using samples with results outside the normal range to determine the coefficient of variation for this type of sample. Linearity, accuracy and carryover results were similar to those obtained in other studies. Taking these results into consideration, the equipment was approved to be used in the laboratory

Keywords

Validation Studies; Hematology; Automation; Quality Control

REFERÊNCIAS

1. Bain B. Células Sangüíneas: Um Guia Prático. Porto Alegre, Rio Grande do Sul: Artmed, 2007.
2. Sysmex Corporation. Sysmex XE2100L/XE2100D Operators Manual. 1. ed. Mundelein: Sysmex America, 2007.
3. Bonini P. et al. Errors in laboratory medicine. Clin Chem, Milan. 2002 48(5). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11978595>. Acesso em: 12 ago.2012.
4. Mendes ME, Romano P. Validação de Sistema Analítico. Em: Oliveira CA, Mendes ME. Gestão da Fase Analítica do Laboratório: como assegurar a qualidade na prática. 1. ed. Rio de Janeiro: ControlLab, 2010.2:4062. Disponível em: http://www.controllab.com.br/pdf/gestao_fase_analitica_vol1.pdf. Acesso em: 12 ago.2012.
5. Sanches C, et al. Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial. Rio de Janeiro: SBPC/ML, 2010. 48p.
6. Grillone R, Grimaldi E, Scopacasa F, Dente B. Evaluation of the fully automated hematological analyser Mindray BC 6800: comparison with Horiba ABX Pentra DX120. Int J Lab Hematol. 2014 Aug;36(4):e55-8.
7. de Jonge R, et al. Evaluation of two Sysmex XE2100 analyzers in a HST302 configuration. Sysmex Journal International, Mundelein. 2000;10(2):64-70.
8. Gould N, et al. Performance Evaluation of the Sysmex XE2100D, Automated Hematology Analyzer. Sysmex Journal International, Mundelein. 1999;9(2):120-8.
9. Peng L, et al. Laboratory evaluation of the Sysmex SE9500 automated haematology analyser. Clin Lab Haematol, v. 23, n. 4, p. 23742, Aug 2001. ISSN 01419854. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11683784>. Acesso em: 15 ago.2012.
10. Briggs C. et al. Performance Evaluation of the Sysmex XE2100, Automated Hematology Analyser. Sysmex Journal International, Mundelein.1999;9(2):113-9.
11. Grimaldi E, Scopacasa F. Evaluation of the Abbott CELLDYN 4000 hematology analyzer. Am J Clin Pathol. 2000 Apr;113(4):497-505. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10761450>. Acesso em: 15 ago.2012.
12. Shu G, Lu H, Du H, Shi J, Wu G. Evaluation of Mindray BC-3600 hematology analyzer in a university hospital. Int J Lab Hematol. 2013 Feb;35(1):61-9.
13. Borges L, Siqueira, L. Validação de tecnologia 5diff do analisador hematológico Sysmex XS1000i para laboratório de pequeno/médio porte. Rev Bras Hematol Hemoter. Rio de Janeiro. 2009;31(4): 247-51.

Correspondência

Kelly Goulart Lima

Avenida Brasil, nº 1150, Bairro São Geraldo
94030-000 – Gravataí, RS

Epidemiologia das infecções pulmonares diagnosticadas em ambiente hospitalar: um estudo retrospectivo

Epidemiology of pulmonary infections diagnosed in hospital environment: a retrospective study

Mariana Lima Prata Rocha¹
Vinicius Lopes Dias²

Resumo

O trato respiratório é o segundo sítio mais comum de infecção no ambiente hospitalar. As pneumonias hospitalares se caracterizam por grande dificuldade de respirar, tosse produtiva e febre elevada. Os principais fatores de risco são idade, tabagismo, hospitalização e procedimentos invasivos. Este estudo objetivou verificar o número de secreções traqueais positivas e determinar os agentes etiológicos predominantes, além de fazer uma análise epidemiológica, identificando a prevalência de gênero, faixa etária e idade média dos pacientes acometidos. Foram analisadas ainda as taxas de resistência aos antimicrobianos. Os pacientes mais acometidos por infecção no sítio respiratório foram os pacientes do gênero masculino, na faixa etária de 61 a 80 anos. Dentre os microrganismos isolados, *Pseudomonas aeruginosa* e o *Acinetobacter baumannii* foram preponderantes. *P. aeruginosa* apresentou-se mais sensível aos antimicrobianos testados (cefepime, ceftazidina, ceftriaxona, imipenem e meropenem) enquanto que *A. baumannii*, em sua maioria, mostrou alto grau de resistência.

Palavras-chave

Pneumonia; *Acinetobacter baumannii*; *Pseudomonas aeruginosa*; Antimicrobianos, Epidemiologia

INTRODUÇÃO

A pneumonia é caracterizada como uma infecção do parênquima pulmonar, apresentando sintomas de infecções respiratórias baixas, sendo as mais comuns: tosse, febre e dificuldade ao respirar.⁽¹⁾ Segundo Pereira et al.,⁽²⁾ a desnutrição, idade avançada, hospitalização prolongada, tabagismo e procedimentos invasivos são os principais fatores de risco para pneumonia. O trato respiratório é o segundo sítio mais comum de infecção hospitalar, representando 30% do total de infecções.⁽³⁾ Essas infecções são particularmente críticas, pois, normalmente, levam à hospitalização em UTI e apresentam altas taxas de mortalidade.^(4,5)

Os patógenos mais comumente relacionados a infecções pulmonares são *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter* sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas*

aeruginosa e *Staphylococcus aureus*.⁽⁶⁾ Muitos desses são organismos oportunistas, sendo isolados em diversos habitats como solo, plantas, água e animais.^(3,7) A presença de pili, flagelo, fatores de secreção de enzimas e bombas multidrogas conferem a muitos deles grande capacidade de resistência aos antimicrobianos.⁽⁸⁻¹¹⁾

Dentre os diferentes patógenos pulmonares, *P. aeruginosa* tem sido frequentemente reportado. Esse microrganismo é um bacilo Gram-negativo, aeróbico, não formador de esporos, apresentando-se sozinho, em pares ou em pequenas cadeias, sendo caracterizado como uma bactéria ubiquitária, móvel e participante da microbiota.⁽¹²⁾ Infecções causadas por esses agentes, em geral, estão associadas à alta letalidade pelas limitadas opções terapêuticas em decorrência de resistência antimicrobiana.⁽¹²⁾ Componentes líquidos, materiais e equipamentos hospitalares como fluidos de administração intravenosa,

¹Doutora em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, Universidade Federal de Uberlândia - UFU. Coordenadora e Professora da Faculdade Presidente Antônio Carlos de Uberlândia, MG.

²Graduando em Biomedicina.

Instituição: Universidade Presidente Antônio Carlos, Campus Uberlândia, MG.

Conflitos de interesse: Sem conflitos de interesse.

Suporte financeiro: Faculdade Presidente Antônio Carlos de Uberlândia.

Artigo recebido em 31/08/2014

Artigo aprovado em 29/07/2015

desinfetantes e equipamentos de ventilação assistida podem servir como reservatório para *P. aeruginosa* e *A. baumannii*.^(7,13) O *A. baumannii* é outro organismo muito frequente em infecções hospitalares, sendo caracterizado por ser uma bactéria Gram-negativa, estritamente aeróbica, não fastidiosa, não fermentadora, imóvel, catalase-positiva, oxidase-negativa, não produtoras de pigmento e ubquitária, adaptando-se muito bem a climas quentes e úmidos.⁽⁷⁾

Para tratamento das infecções hospitalares, um grande arsenal terapêutico está disponível. No entanto, na prática clínica, os β-lactâmicos são a maior e mais empregada família de antimicrobianos. Esses agem sobre a última etapa da síntese da parede celular bacteriana, inibindo a síntese de peptidoglicano e ativando uma autolisina bacteriana endógena que destrói o peptidoglicano, o que impede a formação da parede celular do microrganismo.⁽¹⁴⁾ A resistência aos β-lactâmicos ocorre por mecanismos variados, incluindo a produção da β-lactamases. A troca de informações genéticas entre microrganismos, com transferência de genes para novos hospedeiros, e as mutações que podem ocorrer nos genes de resistência ampliam o espectro de baixa sensibilidade aos antimicrobianos.⁽¹⁵⁻¹⁸⁾

O presente estudo tem como objetivo avaliar retrospectivamente os resultados de culturas positivas de secreção traqueal, analisando a prevalência dos microrganismos e idade e gênero dos pacientes acometidos, bem como o perfil de sensibilidade dos microrganismos predominantes.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo retrospectivo com análise dos resultados laboratoriais, no qual foram avaliadas 210 culturas de secreção traqueal positivas, de diversos hospitais da cidade de Uberlândia, Minas Gerais, no período de outubro de 2012 a outubro de 2013. Para avaliação dos resultados, foram recuperados as fichas de pacientes e os laudos dos exames microbiológicos. A análise retrospectiva dos dados foi procedida pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade Presidente Antônio Carlos, campus de Uberlândia.

RESULTADOS

No período de outubro de 2012 a outubro de 2013, foram obtidas 210 culturas de secreção traqueal positivas, com a presença de 329 microrganismos, no qual 82 (24,9%) foram identificadas como *P. aeruginosa* e 83 (25,2%) como *A. baumannii*. O isolamento de *S. aureus*, *K. pneumoniae* e outros microrganismos em menor quantidade também foi observado (Figura 1).

Das 210 culturas de secreção traqueal avaliadas, 60% (49) foram de pacientes do gênero masculino (Figuras 2, 4), com faixa etária de 61 a 80 anos (Figuras 3, 5), para infecções por *P. aeruginosa* e *A. baumannii*.

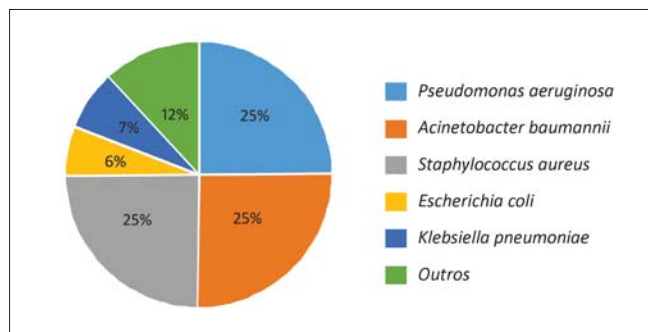


Figura 1. Prevalência dos microrganismos em culturas de secreção traqueal.

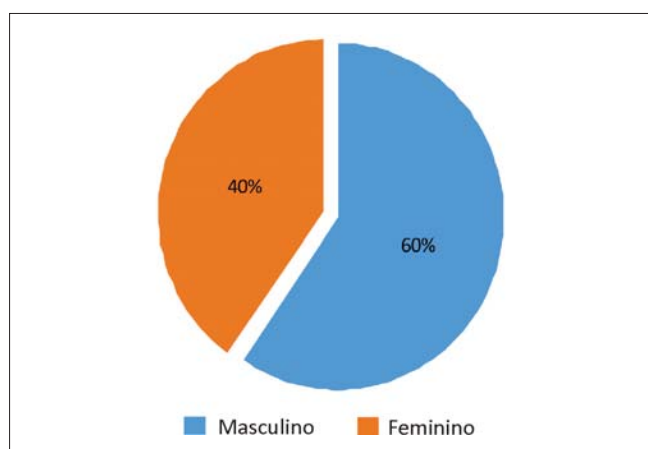


Figura 2. Prevalência de gênero dos pacientes com cultura positiva para *Pseudomonas aeruginosa*.

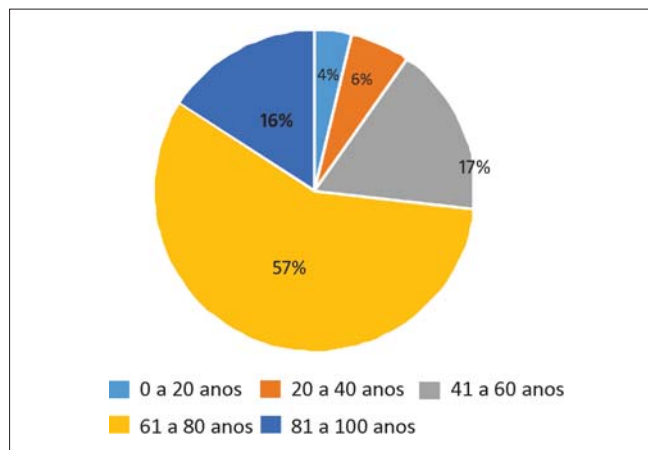


Figura 3. Faixa etária com cultura positiva para *Pseudomonas aeruginosa*.

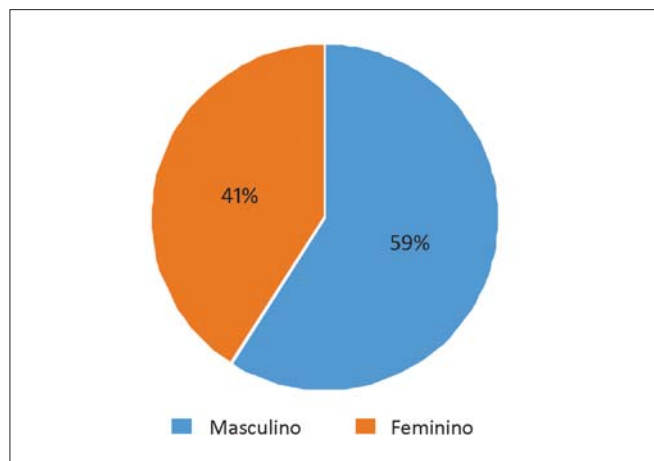


Figura 4. Prevalência de gênero dos pacientes com cultura positiva para *Acinetobacter baumannii*.

A idade média de pacientes com cultura de secreção positiva para *P. aeruginosa* foi de 63,8 anos, com o gênero masculino apresentando idade média de 63,3 anos e o feminino de 64,6 anos. Para infecções causadas por *A. baumannii*, a idade média foi de 67,2 anos, sendo que os pacientes do gênero masculino exibiram idade média de 67,6 anos e os do gênero feminino idade média de 66,6 anos.

Do total de culturas positivas, 119 (56,6%) eram mistas. Culturas mistas foram encontradas em 34 (41,5%) dos 82 isolados de *P. aeruginosa*. Com relação às 83 amostras de *A. baumannii*, 22 (26,5%) eram também culturas mistas.

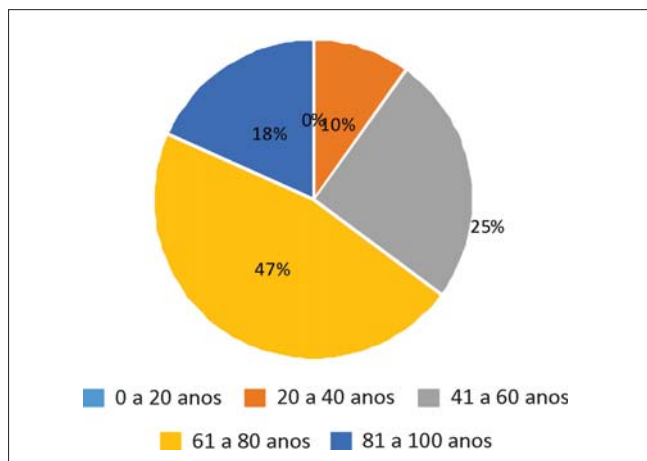


Figura 5. Faixa etária com cultura positiva para *Acinetobacter baumannii*.

Relativamente ao perfil de sensibilidade de *P. aeruginosa*, 56% das cepas avaliadas foram sensíveis aos β -lactâmicos, 41% apresentam resistência e as demais foram classificadas como intermediárias ou de susceptibilidade desconhecida (Tabela 1).

Dos isolados de *P. aeruginosa*, 44% exibiram resistência aos carbapenêmicos, sendo que 95% (35) desses apresentaram concentração inibitória mínima (CIM) entre 15 e 32 mg/dL para imipenem e 97% (34) exibiram CIM entre 15 e 32 mg/dL para meropenem. Das 34 cepas resistentes à ciprofloxacina, todas apresentaram CIM entre 32 a 64 mg/dL (Tabela 2).

Tabela 1 - Perfil de Sensibilidade de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* a β -lactâmicos

Antibiótico	Sensíveis N (%)	Intermediários N (%)	Resistentes N (%)	Não realizado N (%)	Total N (100%)
Aztreonam	47 (57%)	0	35 (43%)	0	82
Cefepime	44 (54%)	2 (2%)	36 (44%)	0	82
Ceftazidima	52 (63%)	1 (1%)	29 (36%)	0	82
Ciprofloxacina	44 (54%)	4 (5%)	34 (41%)	0	82
Imipenem	45 (55%)	0	37 (45%)	0	82
Meropenem	46 (56%)	0	35 (43%)	1 (1%)	82

Tabela 2 - Concentração inibitória mínima (CIM) de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* frente a β -lactâmicos

Antibiótico	CIM ≥ 8 e ≤ 16 N (%)	CIM ≥ 16 e ≤ 32 N (%)	CIM ≥ 32 e ≤ 64 N (%)	CIM ≥ 64 e ≤ 128 N (%)	CIM ≥ 128 e ≤ 256 N (%)
Aztreonam	6 (17%)	10 (28%)	2 (6%)	1 (3%)	16 (46%)
Cefepime	5 (14%)	6 (17%)	2 (5%)	23 (64%)	0
Ceftazidima	2 (7%)	4 (14%)	0	0	23 (79%)
Ciprofloxacina	0	0	34 (100%)	0	0
Imipenem	2 (5%)	35 (95%)	0	0	0
Meropenem	1 (3%)	34 (97%)	0	0	0

Em relação ao perfil de sensibilidade das cepas de *A. baumannii* aos antimicrobianos β -lactâmicos, 96% das cepas analisadas apresentaram resistência frente à cefepime, ceftazidima e ceftriaxona. Frente aos carbapenêmicos, 66% das amostras apresentaram resistência (Tabela 3).

Das cepas de *A. baumannii* resistentes à ceftazidima (79) e ceftriaxona (82), 98% apresentaram CIM

entre 128 e 256 mg/dL, enquanto que para todas as cepas resistentes à cefepime (79), a CIM variou de 64 a 128 mg/dL. As taxas de resistência aos carbapenêmicos ficaram em torno de 66%, sendo que 94% (50) desses apresentaram CIM entre 15 e 32 mg/dL para imipenem e 100% (57) entre 15 e 32 mg/dL para meropenem (Tabela 4).

Tabela 3 - Perfil de resistência de cepas de *Acinetobacter baumannii* a β -lactâmicos

Antibiótico	Sensíveis N (%)	Intermediários N (%)	Resistentes N (%)	Não realizado N (%)	Total N (100%)
Cefepime	4 (5%)	0	79 (95%)	0	83
Ceftazidima	4 (5%)	0	79 (95%)	0	83
Ceftriaxona	1 (1%)	0	82 (99%)	0	83
Imipenem	29 (35%)	1 (1%)	53 (64%)	0	83
Meropenem	26 (31%)	0	57 (69%)	0	83

Tabela 4 - Concentração inibitória mínima (CIM) de cepas de *Acinetobacter baumannii* frente a β -lactâmicos

Antibiótico	CIM	CIM	CIM	CIM	CIM
	≥ 8 e ≤ 16 N (%)	≥ 16 e ≤ 32 N (%)	≥ 32 e ≤ 64 N (%)	≥ 64 e ≤ 128 N (%)	≥ 128 e ≤ 256 N (%)
Cefepime	0	0	0	79 (100%)	0
Ceftazidima	0	0	1 (1%)	1 (1%)	77 (98%)
Ceftriaxona	0	1 (1%)	1 (1%)	0	80 (98%)
Imipenem	3 (6%)	50 (94%)	0	0	0
Meropenem	0	57 (100%)	0	0	0

DISCUSSÃO

As bactérias *P. aeruginosa* e *A. baumannii* são os principais agentes etiológicos de infecções respiratórias.^(19,20) Segundo o estudo de Guimarães,⁽¹⁹⁾ os agentes infecciosos identificados em culturas positivas de secreção do trato respiratório mais prevalentes foram *P. aeruginosa* (32,5%), *A. baumannii* (25,7%), *S. aureus* (13,7%). Em outra investigação, a maioria dos isolados (17,27%) era de *P. aeruginosa*.⁽²⁰⁾ No presente trabalho, foi possível observar que *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e *S. aureus* foram identificados em 75% das culturas de secreções traqueais positivas, sendo 25% a taxa para cada microrganismo.

Quanto à prevalência de gêneros, foi possível verificar, com esta pesquisa, a preponderância do gênero masculino para ambos os microrganismos (*A. baumannii* e *P. aeruginosa*), sendo observado ainda que 60% desses pacientes tinham secreção positiva para *P. aeruginosa* e 59% dos pacientes, secreção positiva para *A. baumannii*. Outro estudo informou que pacientes com infecções causadas por *P. aeruginosa* e *A. baumannii* eram predominantemente

no gênero feminino (55,5%).⁽³⁾ Conforme Guimarães,⁽¹⁹⁾ para infecções causadas por *A. baumannii*, a prevalência do gênero masculino pode chegar a 86,7%.

Em relação às faixas etárias, 57% dos pacientes com cultura de secreção traqueal positiva para *P. aeruginosa* possuíam idade entre 61 a 80 anos, 17% possuíam idade entre 41 a 60 anos e 16% idade entre 81 a 100 anos. Para culturas de secreção traqueal, onde se isolou *A. baumannii*, os pacientes com faixa etária entre 61 a 80 anos apresentaram taxa de incidência de 47%; para os pacientes com faixa etária entre 41 a 60 anos, a incidência foi de 25%, e para pacientes entre 81 a 100 anos a taxa foi de 18%. Em alguns estudos, foi informada média de 51,2 anos, enquanto que em outro estudo, foi observado que a maior incidência de *A. baumannii* foi encontrada em pacientes com idade igual ou superior a 30 anos (76,7%).^(3,19) No presente trabalho, os pacientes com infecções causadas por *A. baumannii* tinham média de idade de 67,2 anos, sendo que, para pacientes do gênero masculino, a média de idade foi de 67,6 anos e para pacientes do gênero feminino foi de 66,6 anos. Nas infecções causadas por *P. aeruginosa*, a média de idade

foi de 63,8 anos, com o gênero masculino apresentando média de 63,3 anos e o feminino de 64,6 anos.

Entre os antimicrobianos utilizados neste estudo, a sensibilidade geral frente a *P. aeruginosa* e *A. baumannii* ficou entre 54%-63%. Outras investigações sobre suscetibilidade aos antimicrobianos relataram taxas de sensibilidade de 45% a 58% frente à cefepime para as cepas de *P. aeruginosa*.^(20,21) De acordo com Pires,⁽²⁰⁾ *P. aeruginosa* possui sensibilidade à aztreonam e ciprofloxacina em percentuais de 74,4% e 47,1%, respectivamente. Hoban et al.⁽²²⁾ relataram que 89,1% das amostras de *P. aeruginosa* isoladas foram sensíveis ao meropenem e 85,6% ao imipenem. O estudo de Pires⁽²⁰⁾ revelou também que 79,3% das cepas de *P. aeruginosa* por ele estudadas eram sensíveis ao meropenem e 85,1% sensíveis ao imipenem. No entanto, Sader et al.⁽²³⁾ observaram uma resistência de 66,5% ao imipenem e de 69% ao meropenem. A presente pesquisa constatou que a sensibilidade de *P. aeruginosa* foi de 56% e 55% para meropenem e imipenem, respectivamente.

Na presente pesquisa, para *A. baumannii*, foi observada resistência de 64% e 69% frente ao imipenem e meropenem, respectivamente. Esse foi o mais baixo valor de resistência para a classe de β -lactâmicos, já que alguns isolados apresentam resistência de até 99%. Das amostras de *A. baumannii* avaliadas por Guimarães,⁽¹⁹⁾ cerca de 73,4% eram resistentes aos carbapenêmicos. Esse autor observou ainda taxas de resistência de 90% e 93,3%, respectivamente, para cefepime e ceftazidima. Nesta avaliação, não foram encontradas cepas pan-resistentes.

CONCLUSÃO

No período de estudo, foram identificadas 210 culturas de secreção traqueal positivas. Os principais agentes etiológicos foram *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e *S. aureus*. Das culturas positivas para *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, a maioria pertencia ao gênero masculino. As infecções pulmonares foram mais frequentes na faixa etária entre 61 a 80 anos. A média de idade dos pacientes com infecção causada por *P. aeruginosa* foi de 63,8 anos e para infecções causadas por *A. baumannii*, foi de 67,2 anos. Para *P. aeruginosa*, 57% das cepas foram resistentes ao aztreonam, 54% ao cefepime, 63% à ceftazidima, 54% à ciprofloxacina, 55% ao imipenem e 56% ao meropenem. A faixa de CIM para aztreonam ficou entre ≥ 128 e ≤ 256 mg/dL, cefepime entre ≥ 64 e ≤ 128 mg/dL, ciprofloxacina entre ≥ 32 e ≤ 64 mg/dL e imipenem e meropenem entre ≥ 16 e ≤ 32 mg/dL. Para o *A. baumannii*, 99% das cepas foram resistentes à ceftriaxona, 95% resistentes a cefepime e ceftazidima, 64% resistentes ao imipenem e 69% resistentes ao meropenem. A CIM para ceftazidima e ceftriaxona ficou entre ≥ 128 e ≤ 256 mg/dL, cefepime

entre ≥ 64 e ≤ 128 mg/dL e imipenem e meropenem entre ≥ 16 e ≤ 32 mg/dL.

Agradecimentos

Aos colaboradores do laboratório, especialmente ao setor de Microbiologia, que contribuíram com o desenvolvimento do trabalho.

Abstract

The respiratory tract is the second most common site of infection in the hospital environment. Hospital pneumonia is characterized by great difficulty in breathing, productive cough and high fever. The main risk factors are age, smoking, hospitalization and invasive procedures. This study aimed to verify the number of positive tracheal secretions and determine the predominant etiologic agents, as well as make an epidemiological analysis, identifying the prevalence of gender, age and average age of the patients. It was also analyzed the antimicrobial resistance rates. The most affect patient by respiratory infection were male, aged 61-80 years. Among the microorganisms, P. aeruginosa and A. baumannii were predominant. P. aeruginosa showed to be more sensitive to the tested antimicrobials (cefepime, ceftazidina, ceftriaxone, imipenem and meropenem) while A. baumannii mostly showed a high degree of resistance.

Keywords

Pneumonia; Acinetobacter baumannii; Pseudomonas aeruginosa; Antimicrobial, Epidemiology

REFERÊNCIAS

1. Luna CM, Calmaggi A, Caberloto O, Gentile J, Valentini R, Ciruzzi J, et al; Grupo Argentino de Estudio de la NAC. Neumonía acquired in the community. Practical guide elaborated by a committee intersocieties. Medicina (B Aires). 2003;63(4):319-43. [Article in Spanish].
2. Pereira CA, Carvalho CRR, Silva JLP, Dalcolmo MMP, Messeder OHC. Consenso Brasileiro de Pneumonias em Indivíduos Adultos Imunocompetentes. J Pneumol. 2001;27:22-41.
3. Nóbrega MS. Evolução da resistência de Pseudomonas aeruginosa e Acinetobacter baumannii em unidades de terapia intensiva. Rev Elet Enfer. 2013 Jul/Set;15(3):696-703.
4. Dodet B. Immunity in the elderly. Vaccine. 2000;18(16):1565.
5. Nicholson KG, Kent J, Hammersley V, Cancio E. Acute viral infections of upper respiratory tract in elderly people living in the community: comparative, prospective, population based study of disease burden. BMJ. 1997 Oct;315(7115):1060-4.
6. Nogueira PSF, Moura ERF, Costa MMF, Monteiro WMS, Brondi L. Perfil da infecção hospitalar em um hospital universitário. Rev enf. 2009 Jan/Mar;17(1):96-101.
7. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen. Clin Microb Rev. 2008; 21(3):538-82.
8. Balasubramanian D, Schneper L, Kumari H, Mathee K. A dynamic and intricate regulatory network determines Pseudomonas aeruginosa virulence. Nucleic Acids Research. 2013 Jan;41(1): 1-20.
9. González G, Mella S, Zemelman R, Bello H, Domínguez M. Integrins and resistance gene cassettes: structure and role against antimicrobials. Rev Med Chil. 2004 May;132(5):619-26. [Article in Spanish].
10. Héritier C1, Poirel L, Fournier PE, Claverie JM, Raoult D, Nordmann P. Characterization of the naturally occurring oxacillinase of Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother. 2005 Oct; 49(10):4174-9.

11. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanism and epidemiology. *Clin Microbiol Infect*. 2006 Sep;12(9):826-36.
12. Zavasky AP. Fatores de risco para aquisição de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a Imipenem em pacientes hospitalizados. Porto Alegre. Dissertação [Mestrado. Em Ciências Médicas] - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003.
13. Swaddiwudhipong W, Tangkitchot T, Silarug N. An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* postoperative endophthalmitis caused by contaminated intraocular irrigating solution. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1995 May-Jun;89(3):288.
14. Marin M, Gudiol F. beta-Lactam antibiotics. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2003 Jan;21(1):42-55. [Article in Spanish].
15. Ben-Mahrez K, Rejiba S, Belhadj C, Belhadj O. Beta-lactamase-mediated resistance to extended spectrum cephalosporins among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Res Microbiol*. 1999 Jul-Aug;150(6):403-6.
16. Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Our worst nightmare? *Clin Infect Dis*. 2002 Mar;34(5):634-40.
17. Tenover FC, Hughes JM. The challenges of emerging infectious diseases: development and spread of multiply-resistant bacterial pathogens. *JAMA*. 1996 Jan;275(4):300-4.
18. Williams JD. Beta-lactamases and beta-lactamase inhibitors. *Intern J Antimicrob Agents*. 1999;1(12):3-7.
19. Guimarães MP. Ocorrência de *Acinetobacter baumannii* resistente aos Carbapanêmicos em pneumonias associadas a ventilação mecânica em uma unidade de terapia intensiva de adultos mista de um Hospital universitário Brasileiro: Fatores de risco e prognóstico. Uberlândia. Dissertação [Mestrado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas] – Universidade Federal de Uberlândia, 2011.
20. Pires EJVC, Silva Júnior VV, Lopes ACS, Veras DL, Leite LE, Maciel MAV. Análise epidemiológica de isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* provenientes de hospital universitário. *Rev bras ter intensiva*. 2009 Oct/Dec;21(4):384-90.
21. Figueiredo EAP, Ramos H, Maciel MAV, Vilar MCM, Loureiro NG, Pereira RG. *Pseudomonas aeruginosa*: frequência de resistência a múltiplos fármacos e resistência cruzada entre antimicrobianos no Recife-PE. *Rev bras ter intensiva*. 2007 Oct/Dec;19(4):421-7.
22. Hoban DJ, Biedenbach DJ, Mutnick AH, Jones RN. Pathogen of occurrence and susceptibility patterns associated with pneumonia in hospitalized patients in North America: results of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Study (2000). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2003 Apr;45(4):279-85.
23. Sader HS, Mendes RE, Gales AC, Jones RN, Pfaller MA, Zoccoli C, Sampaio J. Perfil de sensibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas do trato respiratório baixo de pacientes com pneumonia internados em hospitais brasileiros: resultados do Programa SENTRY, 1997 e 1998. *J Pneumologia*. 2001;2(27):59-67.

Correspondência

Mariana Lima Prata Rocha
Rua Barão de Camargos, 695 – Centro
38400-160 - Uberlândia, MG

Comparação das equações MDRD e CKD-EPI na estimativa da taxa de filtração glomerular em pacientes diabéticos e hipertensos não diagnosticados com doença renal crônica atendidos em ambulatório de um hospital universitário

Comparing the equation MDRD & CKD-EPI in the estimate of glomerular filtration rate in diabetic and hypertensive patients not diagnosed with chronic kidney disease served in a outpatient university hospital

Mariano Felisberto¹

Vanessa Nes²

Mônica Tereza Suldotski³

Edson Antonio Alves da Silva⁴

Resumo

A demonstração clínica da função renal é primordial para a prática médica. A taxa de filtração glomerular (TFG) é uma medição direta da função renal e é reduzida antes do início dos sintomas de insuficiência renal. Determinar essa taxa é crucial para o diagnóstico e estadiamento da doença renal crônica (DRC) e para a avaliação da resposta ao tratamento. A TFG pode ser estimada utilizando-se equações matemáticas empíricas baseadas na dosagem de creatinina sérica, como a MDRD e CKD-EPI. Seu uso tem sido incentivado como um meio simples, rápido e viável da avaliação da função renal. O objetivo deste estudo foi comparar a eTFG gerada pelas equações MDRD e CKD-EPI em indivíduos não diagnosticados com DRC. Foram selecionados noventa pacientes atendidos no Ambulatório do Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP). Entre os pacientes selecionados para o estudo, a eTFG média obtida, utilizando-se as fórmulas CKD-EPI e MDRD, foi de 91 ml/min/1,73 m² (DP±28) e 93 ml/min/1,73 m² (DP±41). A taxa global de pacientes com eTFG <60 ml/min/1,73 m², utilizando-se o cálculo do CKD-EPI, foi de 14% e, com o MDRD, foi de 17%. Foi possível concluir que a TFG de pacientes ambulatoriais apresentando ou não comorbidades pré-existentes pode ser estimada tanto pela equação CKD-EPI quanto pelo estudo MDRD.

Palavras-chave

Função renal; Taxa de filtração glomerular (TFG); Doença renal crônica (DRC); Creatinina; MDRD; CKD-EPI.

INTRODUÇÃO

Estima-se que a doença renal crônica (DRC) afete de 10% a 15% da população adulta no mundo. Reconhecida como um problema de saúde pública internacional,⁽¹⁻⁴⁾ pode levar a sequelas graves, incluindo insuficiência renal, doença cardiovascular, morte prematura e diminuição da qualidade de vida.⁽⁵⁻⁸⁾

De acordo com a *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (KDOQI) da *National Kidney Foundation* dos Estados Unidos,⁽⁹⁾ é portador de DRC todo indivíduo que

apresente taxa de filtração glomerular (TFG) < 60 ml/min/1,73 m² e que tenha, pelo menos, um marcador de lesão do parênquima renal ou que apresente cronicidade por um período de três meses ou mais.^(10,11) Importa considerar que a demonstração clínica da função renal é primordial para a prática médica. A TFG é amplamente aceita como indicador da função renal em pacientes saudáveis e doentes e, nesse sentido, valores fidedignos são fundamentais para a tomada de decisão clínica mais correta.⁽¹²⁾

A TFG é uma medição direta da função renal e se apresenta reduzida antes do início dos sintomas de

¹Farmacêutico especialista em Análises Clínicas (Unioeste)

²Farmacêutica especialista em análises clínicas (Unioeste) – Mestre em Biociências e Fisiopatologia – UEM.

³Farmacêutica/Bioquímica (UEPG), Mestre em Engenharia Biomédica – UFTPR.

⁴Professor Doutor – Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste – Cascavel, PR.

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste – Cascavel, PR.

Conflito de interesse: sem conflito de interesse

Artigo recebido em 25/07/2012

Artigo aprovado em 25/11/2015

insuficiência renal.⁽¹³⁾ Determinar essa taxa é crucial para o diagnóstico e estadiamento da DRC e para a avaliação da resposta ao tratamento.^(14,15)

O cálculo da estimativa da taxa de filtração glomerular (eTFG), usando fórmulas matemáticas empíricas, tem sido incentivado como um meio simples, rápido e viável para a avaliação da função renal.⁽¹⁶⁾ As equações mais empregadas e analisadas têm sido as dos estudos MDRD e CKD-EPI.^(17,18)

A equação *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD) tornou-se o método preferido para a eTFG.^(19,20) No entanto, existe a preocupação em relação à validade do estudo da equação MDRD quando aplicada além do contexto clínico original em que foi estabelecida.⁽²¹⁾ Essa fórmula foi, inicialmente, desenvolvida em pacientes com DRC conhecida, mas foi subsequente e amplamente utilizada na população e em pessoas com diversos perfis de risco cardiovasculares, apesar de não haver provas de sua confiabilidade, como teste de triagem em pacientes sem DRC conhecida.⁽²²⁻²⁹⁾ Embora a equação MDRD seja recomendada para estimar a TFG,^(11,30-32) a *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI) propôs, recentemente, uma equação alternativa, onde se aplicam coeficientes diferentes para as mesmas quatro variáveis utilizadas na equação MDRD (idade, sexo, raça e creatinina sérica).⁽¹⁷⁾

A equação CKD-EPI foi desenvolvida a partir dos dados de dez estudos e validados utilizando-se os dados obtidos de outros 16 estudos clínicos e surgiu para reduzir o viés da equação MDRD, especialmente em pacientes com eTFG ≥ 60 ml/min/1.73 m², apesar da precisão permanecer abaixo da ideal.⁽¹⁷⁾

O objetivo deste estudo foi comparar a eTFG gerada pelas equações MDRD e CKD-EPI em indivíduos que não apresentam diagnóstico de doença renal crônica, atendidos no ambulatório do Hospital Universitário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados noventa pacientes atendidos no Ambulatório do Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP), para o estudo clínico, após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (Parecer nº 413.911). Os pacientes responderam a um questionário e foram submetidos à coleta de sangue venoso para dosagem sérica da creatinina. Neste estudo, foram incluídos os pacientes com idade igual ou superior a 18 anos e que concordaram espontaneamente em participar da pesquisa. Os pacientes que relatavam diagnóstico conhecido de insuficiência renal crônica não foram incluídos no estudo.

Dados demográficos como sexo, idade, raça, diagnóstico prévio de doenças crônicas (hipertensão arterial e diabetes) foram avaliados. Para a classificação dos pacientes em hipertensos e diabéticos foi utilizado, como critério, o uso de qualquer medicação anti-hipertensiva e de hipoglicemiantes orais ou insulina, respectivamente.

Amostras de sangue venoso, após jejum mínimo de oito horas, foram coletadas. Os valores de creatinina sérica foram medidos pela metodologia enzimática de química seca, utilizando-se o analisador automatizado Vitros® 5.1 FS (Johnson & Johnson, Brasil). A calibração do método foi procedida com o uso de um calibrador rastreável a ID-MS (*Isothope Dilution - Mass Spectrometry*), a fim de se obterem resultados de creatinina mais próximos ao valor real.

Para a medição da taxa de filtração glomerular estimada (eTFG) foram utilizadas as equações disponíveis em www.mdrd.com, onde a idade é expressa em anos e a creatinina sérica em mg/dL, como a seguir:

MDRD – TFG (ml/min/1,73 m²) = 186 x (Cr)^{1,154} x (Idade)^{0,203} x 1,212 (Afroamericano) x 0,742 (Mulher)

CKD-EPI – TFG (ml/min/1,73 m²) = 141 x min (Cr/k, α) x max (Cr/k, 1)^{1,209} x 0,993^{Idade} x 1,018 [Mulher] x 1,159 [Afroamericano]

Sendo: TFG: Taxa de Filtração Glomerular; Cr: Creatinina sérica; α : - 0,329 para mulheres e - 0,411 para homens; min: mínimo de creatinina sérica ou 1; máx: máximo de creatinina sérica ou 1.

A análise estatística dos dados foi realizada através do *software R* versão 2.15.0 (*R Development Core Team, 2012*), sendo adotada uma significância de 5% para os testes. Valores de $p < 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos para uma hipótese alternativa. As variáveis foram resumidas em média \pm desvio padrão.

Foi empregado o teste t-Student e teste Wilcoxon para comparar as médias das taxas de filtração glomerular estimada (eTFG) pelas equações MDRD e CKD-EPI.

RESULTADOS

Noventa pacientes foram selecionados para o estudo, sendo 35% (32) homens e 65% (58) mulheres. A eTFG média foi obtida utilizando-se as fórmulas CKD-EPI e MDRD, baseadas na creatinina.

A Tabela 1 mostra a TFG média, estimada pelas fórmulas CKD-EPI e MDRD, na população total, de acordo com os subgrupos: gênero, idade inferior ou superior a 60 anos e presença de doenças crônicas (diabetes e hipertensão). Não houve diferenças estatisticamente significativas na eTFG para a maioria dos grupos avaliados, exceto na população masculina, onde

Tabela 1- Média e desvio padrão da eTFG obtida com os cálculos CKD-EPI e MDRD (4 variáveis)

Amostra	eTFG		
	CKD-EPI	MDRD (4 variáveis)	p-valor
Homens (n=32)	85 ml/min/1,73 m ² (DP±26)	71 ml/min/1,73 m ² (DP±28)	0.0212 ²
Mulheres (n=58)	94 ml/min/1,73 m ² (DP±28)	104 ml/min/1,73 m ² (DP±44)	0.4444 ²
Hipertensão arterial (n=47)	80 ml/min/1,73 m ² (DP±26)	78 ml/min/1,73 m ² (DP±36)	0.2263 ²
Diabetes (n=15)	91 ml/min/1,73 m ² (DP±34)	106 ml/min/1,73 m ² (DP±57)	0.4057 ¹
Idade <60 anos (n=59)	103 ml/min/1,73 m ² (DP±24)	109 ml/min/1,73 m ² (DP±42)	0.6825 ²
Idade >60 anos (n=31)	69 ml/min/1,73 m ² (DP±19)	64 ml/min/1,73 m ² (DP±22)	0.3195 ¹
Total (n=90)	91 ml/min/1,73 m ² (DP±28)	93 ml/min/1,73 m ² (DP±41)	0.6036 ²

¹Teste t-student; ²Teste-Wilcoxon

a comparação mostrou diferenças significativas, com eTFG de 85 ml/min/1,73 m² e 71 ml/min/1,73 m², utilizando-se as fórmulas CKD-EPI e MDRD, respectivamente.

Não foram observadas também diferenças significativas entre os grupos quando o critério empregado para a comparação foi o número de pacientes com eTFG <60 ml/min/1,73 m² (Tabela 2).

Tabela 2 - Taxa (%) de pacientes com eTGF <60 ml/min/1,73 m²

Amostra	Taxa		
	CKD-EPI	MDRD (4 variáveis)	p-valor
Homens (n=32)	18% (6)	28% (9)	0.8384 ¹
Mulheres (n=58)	12% (7)	10% (6)	0.5507 ¹
Hipertensos (n=47)	19% (9)	28% (13)	0.9830 ¹
Diabéticos (n=15)	27% (4)	27% (4)	0.5732 ¹
Idade >60 anos (n=31)	29% (9)	36% (11)	0.4608 ¹
Idade <60 anos (n=59)	7% (4)	8% (5)	0.9466 ¹
Total (n=90)	14% (13)	17% (15)	0.5459 ¹

¹Teste t-student

DISCUSSÃO

Uma das equações mais utilizadas para estimar a TFG tem sido o estudo MDRD,⁽³³⁾ sendo posteriormente adaptada para o uso com valores de creatinina sérica calibrados. Entretanto, seu desempenho parece ser limitado, pois essa equação tende a subestimar a TFG quando essa é superior a 60 ml/min/1,73 m². Essa subestimativa sistemática é explicada pelo fato de que a equação foi desenvolvida em indivíduos com DRC, o que limita sua validade para indivíduos com TFG normal.⁽³⁴⁾

A equação CKD-EPI foi recentemente desenvolvida e parece ter melhor acurácia^(17,35) que a equação MDRD. Essa nova equação de estimativa demonstra a TFG mais

precisamente do que a equação do estudo MDRD na maior parte dos casos,^(17,36-43) mas não em todos.^(44,45) Além disso, a equação CKD-EPI é considerada mais apropriada para categorizar os indivíduos com risco para DRC e doença cardiovascular, na população de meia idade, com função renal normal ou próxima do normal.⁽⁴⁶⁾

O desenvolvimento da equação CKD-EPI foi baseado nos dados de dez estudos de diferentes populações, com um total de 8.252 indivíduos, dos quais 73% tinham DRC e 29% apresentavam *Diabetes Mellitus* (DM). Foi demonstrado que a equação CKD-EPI tem um desempenho melhor do que a equação MDRD, com menos viés, melhor acurácia, mas ainda com uma precisão baixa, especialmente nas faixas normais de TFG. Posteriormente, foi confirmado que a CKD-EPI tem um melhor desempenho do que a MDRD em indivíduos com TFG > 60 ml/min/1,73 m².⁽¹⁸⁾

A equação CKD-EPI tem sido validada em diferentes populações e tem mostrado um desempenho superior à equação MDRD.^(35,47-49) Outros estudos reforçam que a acurácia para detectar a DRC parece ser maior com a CKD-EPI do que com a MDRD.^(46,50) Matsushita et al.,⁽⁴⁶⁾ analisando uma população de indivíduos Afroamericanos e brancos, demonstraram que 43,5% dos participantes com estágio 3 de DRC (TFG estimada por MDRD de 45-49 ml/min/1,73 m²) foram reclassificados como não apresentando DRC quando aplicada a equação CKD-EPI. White et al.⁽⁵⁰⁾ reclassificaram para a faixa normal aproximadamente 25% de indivíduos avaliados com a nova equação. Nos dois estudos citados, os indivíduos que foram reclassificados eram, na sua maioria, brancos, mulheres e jovens. Já o estudo realizado por López Suárez et al.⁽⁵¹⁾ avaliou a equação CKD-EPI na população geral sem doença renal conhecida.

Neste estudo, com a equação MDRD, a porcentagem de homens com TFG <60 ml/min/1,73 m² foi de 28% e a de mulheres foi de 10%, e, com a equação CKD-EPI, foi de 18% em homens e 12% em mulheres.

Alguns trabalhos^(21,52-55) têm demonstrado que, em pacientes diabéticos com eTFG normal, a equação do estudo MDRD subestima os valores de filtração glomerular, o que a torna limitada para identificar os estágios mais precoces da DRC. Da mesma forma, o desempenho da equação CKD-EPI parece ser insatisfatório em pacientes com DM, pela tendência a subestimar a TFG,⁽⁵²⁾ necessitando, por isso, de mais estudos. Nesta avaliação, as médias da eTFG em paciente com DM obtidas pelas equações MDRD e CKD-EPI não mostraram diferenças relevantes.

Um estudo realizado por Gómez Marcos e colaboradores⁽⁵⁶⁾ mostrou que a média da eTFG, utilizando a equação CKD-EPI, em pacientes hipertensos, é 4,37 ml/min/1,73 m², maior que a taxa obtida com a equação MDRD.⁽²²⁾ Resultados semelhantes foram encontrados no presente estudo, onde a eTFG média obtida de pacientes hipertensos foi 80 ml/min/1,73 m², empregando-se o cálculo CKD-EPI, e 78 ml/min/1,73 m², utilizando-se a fórmula MDRD. Além disso, naqueles pacientes com eTFG <60 ml/min/1,73 m², o número de hipertensos classificados com DRC foi maior pelo cálculo da equação MDRD (28%) do que com a equação CKD-EPI (19%).

Schold et al.⁽⁵⁷⁾ demonstraram que, entre os pacientes com idade < 60 anos, a classificação da DRC foi significativamente maior, utilizando a equação MDRD. Trinta e cinco por cento dos pacientes foram classificados com DRC com o estudo MDRD, enquanto que nenhum paciente foi classificado com DRC quando utilizado o cálculo CKD-EPI. Entre os pacientes com idade de 60 a 69 e 70 a 79 anos, foi observada uma diminuição da classificação de DRC de 11% e 3%, respectivamente, ao se empregar o cálculo CKD-EPI. Resultado semelhante, em relação aos pacientes idosos, foi obtido neste trabalho (redução de 7% na classificação de DRC, utilizando-se a equação CKD-EPI). Porém, quando foram avaliados os pacientes com idade < 60 anos, a diferença na classificação de pacientes com DRC e na eTFG média não foi significativa.

No presente estudo, a comparação das médias da eTFG, tanto na população global quanto nos subgrupos, também não demonstrou diferenças estatísticas significativas, com exceção da comparação do subgrupo masculino, onde foi observada uma diferença na média da eTFG, a qual apresentou valores de 85 ml/min/1,73 m² (DP±26), utilizando o cálculo CKD-EPI, e de 71 ml/min/1,73 m² (DP±28), com o estudo MDRD. Porém, a comparação das médias das eTFG em pacientes com eTFG <60 ml/min/1,73 m² demonstrou não haver diferenças estatísticas significativas, tanto nos subgrupos quanto na população total.

Importa mencionar que a principal limitação deste estudo foi a falta de conhecimento do valor TFG verdadeira, pois não foi realizada uma medida direta por um método

padrão. Portanto, não é possível identificar qual foi a fórmula que estimou a TFG mais próxima ao valor real.

CONCLUSÃO

Muitas limitações podem ser enumeradas para se chegar a uma equação conveniente pela qual se pode diagnosticar, de forma precoce, a DRC, bem como otimizar o monitoramento de pacientes em tratamento. No entanto, deve-se considerar o uso dessas equações na rotina do laboratório, pois podem produzir resultados mais próximos ao verdadeiro e identificar lesões renais mais precocemente, reduzindo as taxas de morbimortalidade.

Abstract

The renal function markers are very important to medical practice. The glomerular filtration rate (GFR) is a direct measure of the renal function and will decrease before renal failure symptoms start. Determining the GFR is essential for diagnosis chronic kidney disease (CKD) and evaluating treatment response. The GFR can be estimated with the empirical mathematics equation MDRD and CKD-EPI, based on serum creatinine measurements, and has been encouraged as a simple, rapid and available method for renal function evaluation. Our objective was to compare the eGFR generated by MDRD and CKD-EPI equations among non CKD diagnosed patients. 90 outpatients who were served at university hospital of West Paraná (HUOP) were selected. Among selected patients, the mean eGFR obtained with CKD-EPI and MDRD was, 91 ml/min/1,73 m² (DP±28) and 93 ml/min/1,73 m² (DP±41) respectively. The global rate of patients with eGFR <60 ml/min/1,73 m² using CKD-EPI was 14% (13) and using MDRD was 17%(15). We conclude that the GFR from outpatients with or without comorbidity can be estimated by CKD-EPI and MDRD equations.

Keywords

Renal function; Glomerular Filtration Rate (GFR); Chronic Kidney Disease (CKD); Creatinine; MDRD; CKD-EPI

REFERÊNCIAS

1. Chadban SJ, Briganti EM, Kerr PG, Dunstan DW, Welborn TA, Zimmet PZ, et al. Prevalence of kidney damage in Australian adults: the Aus Diab Kidney Study. *J Am Soc Nephrol.* 2003 Jul;14(7 Suppl 2):S131-8.
2. Coresh J, Selvin E, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, et al. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA.* 2007;298(17):2038-47.
3. Hallan SI, Coresh J, Astor BC, Asberg A, Powe NR, Romundstad S, et al. International comparison of the relationship of chronic kidney disease prevalence and ESRD risk. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17(8):2275-84.
4. Perkovic V, Cass A, Patel AA, Suriyawongpaisal P, Barzi F, Chadban S, et al; InterASIA Collaborative Group. High prevalence of chronic kidney disease in Thailand. *Kidney Int.* 2008;73(4): 473-9.
5. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function - measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med.* 2006;354(23):2473-83.
6. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med.* 2004;351(13):1296-305. Erratum in *N Engl J Med.* 2008;18(4):4.

7. Keith DS, Nichols GA, Gullion CM, Brown JB, Smith DH. Longitudinal follow-up and outcomes among a population with chronic kidney disease in a large managed care organization. *Arch Intern Med.* 2004;164(6):659-63.
8. Chow FY, Briganti EM, Kerr PG, Chadban SJ, Zimmet PZ, Atkins RC. Health-related quality of life in Australian adults with renal insufficiency: a population-based study. *Am J Kidney Dis.* 2003; 41(3):596-604.
9. Bastos MG. Identificação da doença renal crônica na comunidade. *J Bras Nefrol.* 2008;30(4):232.
10. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: A position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int.* 2005 Jun;67(6):2089-100.
11. Nacional Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic Kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis.* 2002;39(2 Suppl 1):S1-266.
12. Manjunath G, Sarnak MJ, Levey AS. Estimating the glomerular filtration rate. Dos and don'ts for assessing kidney function. *Postgrad Med.* 2001 Dec;110(6):55-62; quiz 11
13. Li JT, Xun C, Cui CL, Wang HF, Wu YT, Yun AH, et al. Relative performance of two equations for estimation of glomerular filtration rate in a Chinese population having chronic kidney disease. *Chin Med J (Engl).* 2012 Feb;125(4):599-603.
14. Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al; National Kidney Foundation. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med.* 2003;139:137-47. Erratum in *Ann Intern Med.* 2003 Oct 7;139(7):605.
15. Stevens LA, Levey AS. Measured GFR as a confirmatory test for estimated GFR. *J Am Soc Nephrol.* 2009 Nov;20(11):2305-13.
16. Kallner A, Ayling P, Khatami Z. Does eGFR improve the diagnostic capability of S-Creatinine concentration results? A retrospective population based study. *Int J Med Sci.* 2008 Jan 5;5(1):9-17.
17. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, et al; CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009 May 5;150(9):604-12. Erratum in *Ann Intern Med.* 2011 Sep 20;155(6):408
18. Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Zhang YL, Beck GJ, Froissart M, et al. Comparative performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equations for estimating GFR levels above 60 mL/min/1.73 m². *Am J Kidney Dis.* 2010;56(3):486-95.
19. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function-measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med.* 2006;354(23):2473-83.
20. Vassalotti JA, Stevens LA, Levey AS. Testing for chronic kidney disease: a position statement from the National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis.* 2007;50(2):169-80.
21. Fontseré N, Salinas I, Bonal J, Bayés B, Riba J, Torres F, et al. Are prediction equations for glomerular filtration rate useful for the long-term monitoring of type 2 diabetic patients? *Nephrol Dial Transplant.* 2006;21(8):2152-8.
22. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 1999;130(6): 461-70.
23. Ruilope LM, Salvetti A, Jamerson K, Hansson L, Warnold I, Wedel H, et al. Renal function and intensive lowering of blood pressure in hypertensive participants of the hypertension optimal treatment (HOT) Study. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12(2):218-25.
24. Sarafidis PA, Bakris GL. Microalbuminuria and chronic kidney disease as risk factors for cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2006 Sep;21(9):2366-74.
25. Giles PD, Fitzmaurice DA. Formula estimation of glomerular filtration rate: have we gone wrong? *BMJ.* 2007 Jun 9;334 (7605): 1198-20.
26. Delanaye P, Cohen EP. Formula-based estimate of the GFR: equations variable and uncertain. *Nephron Clin Pract.* 2008;110 (1):c48-53
27. Glasscock RJ, Winearls C. An epidemic of chronic kidney disease: factor fiction? *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23(4):1117-21.
28. Coresh J, Stevens AL, Levey AS. Chronic kidney disease is common: what do we do next? *Nephrol Dial Transplant.* 2008; 23(4):1122-5.
29. Feehally J, Griffith KE, Lamb EJ, O'Donoghue DJ, Tomson CR. Early detection of chronic kidney disease. *BMJ.* 2008 Oct 1;337 :a1618.
30. Crowe E, Halpin D, Stevens P; Guideline Development Group. Early identification and management of chronic kidney disease: summary of NICE guidance. *BMJ.* 2008;337:a1530. Erratum in *BMJ.* 2014;349:5045.
31. Miller WG. Estimating glomerular filtration rate. *Clin Chem Lab Med.* 2009;47(9):1017-1019.
32. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, et al; Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2006;145(4):247-54. Erratum in *Ann Intern Med.* 2008 Oct 7;149(7):519.
33. Stevens LA, Coresh J, Feldman HI, Greene T, Lash JP, Nelson RG, et al. Evaluation of the modification of diet in renal disease study equation in a large diverse population. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18 (10):2749-57.
34. Camargo EG. Estimativa da taxa de filtração glomerular com equações baseadas na creatinina e cistatina séricas em pacientes com Diabetes melito Tipo 2. 2011. 90. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.
35. Soares AA, Eyff TF, Campani RB, Ritter L, Weinert LS, Camargo JL, Silveiro SP. Performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equations in healthy South Brazilians. *Am J Kidney Dis.* 2010;55(6):1162-3. Erratum in *Am J Kidney Dis.* 2010 Sep;56 (3):603.
36. Tent H, Rook M, Stevens LA, van Son WJ, van Pelt LJ, Hofker HS, et al. Renal function equations before and after living kidney donation: a within-individual comparison of performance at different levels of renal function. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5 (11):1960-8.
37. Jones GR. Use of the CKD-EPI equation for estimation of GFR in an Australian cohort. *Pathology.* 2010;42(5):487-8.
38. White CA, Akbari A, Doucette S, Fergusson D, Knoll GA. Estimating glomerular filtration rate in kidney transplantation: is the new chronic kidney disease epidemiology collaboration equation any better? *Clin Chem.* 2010;56(3):474-7.
39. Cirillo M, Lombardi C, Luciano MG, Bilancio G, Anastasio P, De Santo NG. Estimation of GFR: a comparison of new and established equations. *Am J Kidney Dis.* 2010;56(4):802-4.
40. Eriksen BO, Mathisen UD, Melsom T, Ingebretsen OC, Jenssen TG, Njølstad I, et al. Cystatin C is not a better estimator of GFR than plasma creatinine in the general population. *Kidney Int.* 2010; 78(12):1305-11.
41. Lane BR, Demirjian S, Weight CJ, Larson BT, Poggio ED, Campbell SC. Performance of the chronic kidney disease-epidemiology study equations for estimating glomerular filtration rate before and after nephrectomy. *J Urol.* 2010;183(3):896-901.
42. Michels WM, Grootendorst DC, Verduijn M, Elliott EG, Dekker FW, Krediet RT. Performance of the Cockcroft-Gault, MDRD, and new CKD-EPI formulas in relation to GFR, age, and body size. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(6):1003-9.

43. Murata K, Baumann NA, Saenger AK, Larson TS, Rule AD, Lieske JC. Relative performance of the MDRD and CKD-EPI equations for estimating glomerular filtration rate among patients with varied clinical presentations. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(8):1963-72.
44. Kukla A, El-Shahawi Y, Leister E, Kasiske B, Mauer M, Matas A, et al. GFR-estimating models in kidney transplant recipients on a steroid-free regimen. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(5):1653-61.
45. Rognant N, Lemoine S, Laville M, Hadj-Aïssa A, Dubourg L. Performance of the chronic kidney disease epidemiology collaboration equation to estimate glomerular filtration rate in diabetic patients. *Diabetes Care*. 2011;34(6):1320-2.
46. Matsushita K, Selvin E, Bash LD, Astor BC, Coresh J. Risk implications of the new CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation compared with the MDRD Study equation for estimated GFR: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Kidney Dis* 2010;55(4):648-59.
47. Sabanayagam C, Wong TY, Tai ES. The CKD-EPI equation and MDRD study equation find similar prevalence of chronic kidney disease in Asian population. *Ann Intern Med*. 2009;151(12):892-3.
48. Montañés Bermúdez R, Bover Sanjuán J, Oliver Samper A, Ballarín Castán JA, Gràcia García S. Assessment of the new CKD-EPI equation to estimate the glomerular filtration rate. *Nefrología*. 2010;30(2):185-94. [Article in Spanish]. Erratum in *Nefrología*. 2012;32(2):273-4.
49. Giavarina D, Cruz DN, Soffiati G, Ronco C. Comparison of estimated glomerular filtration rate (eGFR) using the MDRD and CKD-EPI equations for CKD screening in a large population. *Clin Nephrol*. 2010;74(5):358-63.
50. White SL, Polkinghorne KR, Atkins RC, Chadban SJ. Comparison of the prevalence and mortality risk of CKD in Australia using the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study GFR estimating equations: the AusDiab (Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle) Study. *Am J Kidney Dis*. 2010;55(4):660-70.
51. López-Suárez A, Beltrán-Robles M, Elvira-González J, Fernández-Palacín F, Bascañana-Quirell A, Benítez-Del-Castillo, et al. Comparison of the MDRD and the CKD-EPI equations to estimate the glomerular filtration rate in the general population. *Med Clin (Barc)*. 2010;134(14):617-23.
52. Camargo EG, Soares AA, Detanico AB, Weinert LS, Veronese FV, Gomes EC, et al. The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation is less accurate in patients with Type 2 diabetes when compared with healthy individuals. *Diabet Med*. 2011 Jan;28(1):90-5.
53. Chudleigh RA, Dunseath G, Evans W, Harvey JN, Evans P, Ollerton R, et al. How reliable is estimation of glomerular filtration rate at diagnosis of type 2 diabetes? *Diabetes Care*. 2007 Feb;30(2):300-5.
54. Rossing P, Rossing K, Gaede P, Pedersen O, Parving H H. Monitoring kidney function in type 2 diabetic patients with incipient and overt diabetic nephropathy. *Diabetes Care*. 2006;29(5):1024-30.
55. Poggio ED, Wang X, Greene T, Van Lente F, Hall P M. Performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft- Gault equations in the estimation of GFR in health and in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(2):459-66.
56. Gómez Marcos MA, Rodríguez Sánchez E, Recio Rodríguez JI, Martín Cantera M, Ramos Blanes R, García Ortiz L. Differences between the CKD-EPI and the MDRD equations when estimating the glomerular filtration rate in hypertensive patients. *Nefrología* 2010;30(4):458-62. [Article in Spanish]
57. Schold JD, Navaneethan SD, Jolly SE, Poggio ED, Arrigain S, Saupé W, et al. Implications of the CKD-EPI GFR Estimation Equation in Clinical Practice. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(3):497-504.

Correspondência

Mônica Tereza Suldofski

Avenida Tancredo Neves 3224,

Laboratório de Análises clínicas, ensino, pesquisa e

extensão da Unioeste (Lacepe)

Cascavel, PR, Brasil

Isolamento de bactérias potencialmente patogênicas em indivíduos da comunidade indígena Xavante do estado do Mato Grosso, Brasil

Isolation of potentially pathogenic bacteria of individuals from the Xavante indigenous community of Mato Grosso state, Brazil

Gabriela Mendes Vieira da Silva¹
Joseli Maria da Rocha Nogueira³
Wagner Thadeu Cardoso Esteves²
Cristhiane Moura Falavina dos Reis²
André Victor Barbosa²
Deyse Christina Vallim da Silva²
Ernesto Hofer²
Adauto José Araújo Gonçalves (in memoriam)¹

Resumo

Neste estudo, são apresentados os resultados obtidos em uma pesquisa para bactérias entéricas conduzida entre os Xavantes, grupo indígena de Mato Grosso, Brasil, a partir de fezes conservadas em meio de transporte. Os resultados mostraram, por meio da técnica clássica de isolamento, bioquímica e sorologia, a presença de duas espécies bacterianas importantes, causadoras de diarreia: *Salmonella enterica* e *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC). Essas mesmas amostras, pesquisadas para outros agentes não bacterianos, indicaram também, em 40% dos casos, associação com parasitos, sugerindo uma relação direta com a baixa salubridade da comunidade e a necessidade da implementação de saneamento básico.

Palavras-chave

Xavante; Diarreia bacteriana; *Salmonella enterica*; *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC)

INTRODUÇÃO

A população Xavante habita a região da Serra do Roncador e Vale do Araguaia no centro-oeste do país, se autodenominam "A'uwê Uptabí", que quer dizer "gente verdadeira". Este grupo constitui, com os Xerentes do Tocantins, o ramo Acuen dos povos da família linguística Jê do Brasil Central.⁽¹⁾

Os Xavantes somam uma população próxima a 13 mil pessoas, distribuídas em sete Terras Indígenas (TI), situadas ao leste do estado de Mato Grosso.⁽²⁾ Foram conduzidos para este estado pelas entradas de frentes colonialistas e de exploração nos seus territórios, o que os obrigou a ocupar áreas cada vez mais a oeste, instalando-se, finalmente, nas terras entre os rios Araguaia e das Mortes.⁽³⁾

Estes indivíduos já absorveram alguns elementos da identidade da sociedade nacional, todavia, ainda mantêm características culturais especiais que os diferenciam em estilo de vida e tradições. Os Xavantes de Pimentel Barbosa ou *Etéñitêpa* são considerados os mais tradicionais,

mantendo, mesmo nos dias atuais, as atividades de caça e coleta de alimentos silvestres que permanecem relativamente intensas entre eles.^(4,5)

Uma aldeia Xavante tradicional é construída com as casas dispostas em semicírculo, que se abre em direção ao rio ou córrego. Neste ambiente, convivem com os humanos vários tipos de animais domésticos e silvestres, como pássaros, cães e pequenos mamíferos sem nenhuma barreira física ou cuidados em relação à higiene. É comum a utilização dos cursos d'água (rios e igarapés) para higiene pessoal e lavagem de utensílios, estabelecendo condições propícias à propagação de enteroparasitos e outros agentes patogênicos.⁽⁶⁻⁹⁾

O domínio da mulher é a casa, cuja abertura sempre dá para o centro da aldeia. O domínio do homem é o lugar de reuniões no centro da aldeia (chamado warã), onde são tomadas todas as decisões importantes no conselho diário dos homens.^(10,11)

Contribuindo para o adensamento populacional destas comunidades, a restrição geográfica imposta pela

¹Departamento de Endemias Samuel Pessoa – Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz (ENSP-Fiocruz) Rio de Janeiro, RJ.

²Laboratório de Zoonoses Bacterianas – Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz – Rio de Janeiro, RJ.

³Departamento de Ciências Biológicas – Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz (ENSP-Fiocruz) Rio de Janeiro, RJ.

demarcação territorial e o sedentarismo adotado pelos indígenas levaram à concentração de indivíduos em aldeias com estruturas sanitárias deficientes. Este panorama promove a transmissão de enteroparasitoses.⁽¹²⁾

O papel do sedentarismo sobre as infecções parasitárias é incontestável, já que as pressões populacionais associadas à degradação ambiental comprometem a saúde dos indivíduos.⁽¹³⁾

Apesar das populações indígenas Xavantes procurarem manter as tradições, este povo sofre há algum tempo com o problema de migrações, da demarcação de suas terras e da modificação de seus costumes, muitas vezes levando-os a viver em condições insalubres. Uma particularidade marcante da grande maioria das áreas indígenas é a precariedade das condições de saneamento. O mais comum é a carência de infraestrutura destinada à coleta dos dejetos e a inexistência de água potável nas aldeias. Raramente nos postos indígenas há uma infraestrutura sanitária apropriada. Nesse cenário, não é de admirar que as parasitoses intestinais sejam largamente disseminadas.⁽¹⁴⁻¹⁶⁾

Gastroenterites e infecções respiratórias são frequentes e estão entre as principais causas de morbimortalidade em crianças Xavantes,^(17,18) podendo, inclusive, estar associadas à condição de marginalidade socioeconômica a que estão relegados, o que contribui diretamente para as precárias condições de saneamento de suas aldeias e inadequados serviços de saúde.⁽¹⁹⁾

O grupo Xavante já foi bastante estudado no passado,⁽¹⁹⁾ inclusive o perfil epidemiológico associado à morbidade e mortalidade,⁽¹⁷⁾ todavia, a maioria das pesquisas sobre agentes infecciosos concentrou-se principalmente em helmintos e protozoários. As condições ambientais favoráveis à transmissão desses parasitos intestinais são também aquelas que propiciam a contaminação da água de consumo e dos alimentos por enterobactérias. A presença de cepas patogênicas dessa família bacteriana, já reportada para a população indígena em geral, teve poucos estudos dentro do segmento Xavante. Mesmo assim, esses organismos foram reportados, no passado, como responsáveis por mais de 60% dos casos de morte infantil.⁽²⁰⁾

Com base nestes achados, não se pode questionar que as diarreias infantis são de grande importância para a saúde dessa população, já que a mortalidade por esse agravo é elevada, podendo estar associada também à nutrição inadequada,⁽²¹⁾ assim como às condições precárias de saneamento. A ausência de uma infraestrutura sanitária mínima, tanto nas aldeias como nos postos indígenas, e o aumento de atividades sedentárias⁽²²⁾ favorecem a contaminação do solo e dos córregos próximos às aldeias por formas infectantes de helmintos e protozoários.⁽²¹⁾ O mesmo ocorre com bactérias que, como já foi dito, podem

estar presentes no mesmo ambiente⁽⁹⁾ e se disseminar entre os indivíduos da tribo.

Queixas de dores abdominais e quadros disentéricos são muito comuns em comunidades indígenas. Os agentes bacterianos que comumente causam diarreia no Brasil são: *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *Shigella* spp., *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp.^(23,24) Com base nesses dados, foi idealizado este trabalho com o objetivo de se pesquisar a presença de bactérias potencialmente patogênicas na população Xavante.

MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi realizada na TI Pimentel Barbosa, na comunidade de Etéñitêpa (13° 20' S, 51° 40' W), com 530 habitantes e 34 domicílios, localizada no município de Água Boa, Canarãna, no Mato Grosso. Foram analisadas 209 amostras de fezes de crianças e adultos de ambos os sexos, com diarreia presente ou não.

A coleta de dados no posto de saúde Pimentel Barbosa que atende à aldeia revelou que 39 pessoas com sintomas diarreicos foram atendidas nos trinta dias que precederam a coleta, sendo que vinte residências tiveram indivíduos afetados e, destes, 72% estavam na faixa etária de menos de 4 anos (Gráfico 1).

As amostras foram colhidas com swab estéril, a partir de fezes frescas, doadas voluntariamente pelos membros da comunidade, em potes plásticos estéreis, e introduzidas em meio de transporte Cary e Blair,⁽²⁵⁾ para manutenção dos organismos bacterianos. Esse tubo foi, então, identificado de acordo com o indivíduo e o número da casa e mantido em temperatura ambiente durante o transporte até o Laboratório de Microbiologia do DCB/ENSP, onde foi mantido a 4°C. Esse material foi separado e, posteriormente, processado no Laboratório de Microbiologia do DCB/ENSP, bem como no Laboratório de Zoonoses Bacterianas do IOC-IOC/Fiocruz.

Do total de material coletado, 53 amostras apresentaram aspecto diarreico, dez amostras não puderam ser analisadas pela escassez de material e dez outras, apesar de processadas, careceram de identificação conclusiva. As amostras foram então submetidas aos protocolos clássicos de semeadura e enriquecimento, para pesquisa de bactérias como *Vibrio*, *Salmonella*, *Shigella*, *E. Coli*, *Yersinia* enterocolítica e outros agentes bacterianos passíveis de causar diarreia em humanos, utilizando-se água peptonada alcalina para enriquecimento do gênero *Vibrio* e de caldos selenito e tetrationato para enriquecimento de *Salmonella* e *Shigella*, bem como de meios seletivos indicadores como *thiosulfate-citrate-bile-sucrose* (TCBS) agar, que diferencia bactérias fermentadoras de sacarose no gênero *Vibrio*, *eosin methylene blue* (EMB)

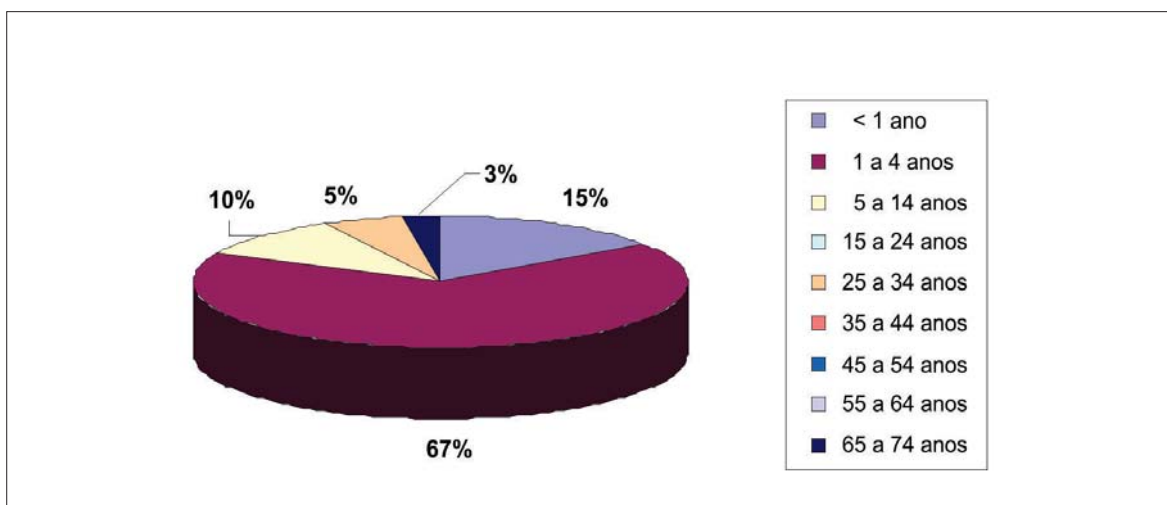


Gráfico 1. Distribuição etária de indivíduos com diarreia que procuraram o posto de saúde no período de 11/06 a 13/07.

agar, *Hektoen enteric* (HE) agar e *MacConkey* agar que diferenciam enterobactérias fermentadoras da lactose das não fermentadoras.⁽²⁶⁻²⁸⁾

Após crescimento, as colônias isoladas foram selecionadas para o meio de Triagem Costa & Vernin,⁽²⁷⁾ que possibilita uma identificação presuntiva dos gêneros, devido às provas diferenciais em sua composição. A partir desta triagem, foram feitas provas bioquímicas complementares⁽²⁹⁾ e, no caso de bactérias potencialmente patogênicas, quando necessário, foi realizada a sorologia para evidenciar o grupo sorológico.⁽²⁹⁾ Para a pesquisa de *Campylobacter*, o material foi diretamente semeado em meio de Columbia com carvão ou com sangue acrescido de solução de antibióticos, para tornar o meio seletivo, e colocado em jarra hermética, realizando-se a técnica da passivação do cobre para obtenção de atmosfera adequada.⁽³⁰⁾ Após realização desse procedimento, a jarra foi incubada a 43°C por 48 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados, a princípio, mostraram somente isolamento de bactérias pertencentes à microbiota normal. Todavia, após várias sementeiras repetidas das mesmas fezes, com o intuito de se detectarem agentes reconhecidamente patogênicos, foi possível o isolamento de *Salmonella enterica* - subespécie entérica sorovar Newport e sorogrupo O30 e *E. coli* enteropatogênica de diferentes sorovares, como expomos na Tabela 1.

Esses achados são importantes em razão da elevada mortalidade infantil por diarreias no grupo Xavante.⁽⁷⁾ Estudos mostram que aproximadamente 60% das causas de atendimento ambulatorial e internações hospitalares

Tabela 1 - Distribuição dos agentes bacterianos potencialmente patogênicos isolados de acordo com as casas e indivíduos utilizados no estudo

Casa	Indivíduo	Agente bacteriano potencialmente patogênico
C03	038	<i>Escherichia coli</i> EPEC (Poli C - O142)
C06	079	<i>Salmonella enterica</i> Subesp. Enterica - sorovar - O30
C09	123	<i>Salmonella enterica</i> Subesp. Enterica - sorovar Newport
C12	172	<i>Escherichia coli</i> EPEC (Poli A)
C15	265	<i>Escherichia coli</i> EPEC (Poli A)
C16	266	<i>Escherichia coli</i> EPEC (Poli A-O119)
C16	268	<i>Escherichia coli</i> EPEC (Poli B - O91)
C31	501	<i>Escherichia coli</i> EPEC (Poli B - O25)
C32	511	<i>Escherichia coli</i> EPEC (Poli A)
C34	533	<i>Escherichia coli</i> EPEC (Poli C - O142)

de crianças indígenas menores de 5 anos de idade devem-se a quadros disentéricos.⁽³¹⁾ Como já citado, as bactérias diarreicogênicas mais isoladas no Brasil são os sorovares EPEC e ETEC de *E.coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp.^(23,24,32,33) No presente trabalho, foram encontradas duas das bactérias mencionadas anteriormente.

A *Salmonella* é uma bactéria entérica, causadora de diarreia, que pode ser recuperada de quase todos os animais vertebrados, tornando-se uma zoonose de importância para humanos, principalmente, no caso do sorotipo Newport, que, à exceção de outros, desenvolve um rápido aumento na resistência a antimicrobianos.⁽³⁴⁾ A espécie *Salmonella enterica* subespécie entérica serovar Newport, encontrada entre os Xavantes, aparece

em outro estudo como multirresistente a antimicrobianos e causadora mais frequente de uma salmonelose bem mais severa e septicêmica que aqueles sorovares não resistentes.^(16,17-33) Esta espécie pode ser isolada em humanos e animais vertebrados.⁽³⁵⁾ A salmonelose é uma das principais doenças transmitidas por alimentos de origem animal de maior impacto em saúde pública.⁽³⁵⁾ Na atualidade, as salmoneloses ocupam uma das posições mais destacadas no campo da saúde coletiva em todo o mundo, exteriorizando-se pelas suas características de endemicidade, morbidade e, em particular, pela dificuldade de seu controle. Todo esse corolário decorre dos múltiplos parâmetros epidemiológicos envolvidos, circunstanciados principalmente pelas inúmeras fontes de infecção e vias de transmissão presentes no ciclo.⁽³⁶⁾

A *E. coli* enteropatogênica (EPEC), considerada também um problema de saúde pública, é importante causa de diarreia infantil em comunidades de baixa renda que, associada a fatores como subnutrição, condições precárias de habitação, falta de água potável e de rede de esgotos, podem levar a importantes surtos, com mortalidade superior a 30%.^(37,38) Sabe-se que a EPEC, além de diarreia aguda, pode causar diarreia sanguinolenta e também alteração física da integridade do intestino. A diarreia com sangue é associada a um processo de destruição de tecidos causada por uma toxina similar a de *Shigella dysenteriae*, igualmente conhecida como

verotoxina.⁽³⁹⁾ Esses sintomas promovem, além de risco para saúde, grande desconforto para os indivíduos infectados, que ficam debilitados para cumprir as tarefas diárias, que, no caso dos indígenas adultos, estão relacionadas ao andamento normal da vida na aldeia. De acordo com Medeiros,⁽²³⁾ que caracterizou, quanto aos sorogrupos e sorotipos, os principais enteropatógenos causadores de diarreia em crianças na região de Ribeirão Preto, é de extrema importância a determinação dos sorogrupos de EPEC, pois existe uma extensa variação de virulência entre eles.^(32,40)

Nos estudos de Gomes e Silva,^(40,41) *E. coli* enteropatogênica (EPEC) destacou-se como sendo a mais frequente em crianças de 0 a 11 meses. Nas amostras positivas Xavante, uma das crianças infectadas por *E. coli* enteropatogênica, na época do estudo, tinha 3 meses de idade.

Comparando-se os resultados do presente trabalho com outro estudo realizado em paralelo,⁽⁴¹⁾ foi possível observar, entre as amostras de fezes positivas para enteropatógenos bacterianos, que quatro indivíduos também foram positivos para helmintos e protozoários, com cistos de *Giardia lamblia*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba dispar/Entamoeba histolytica* e ovos de *Enterobius vermicularis*, *Ascaris lumbricoides* e *Hymenolepis nana* (Tabela 2). Essa comorbidade revela a baixa qualidade higiênico-sanitárias da região indígena avaliada.

Tabela 2 - Tabela comparativa de microrganismos isolados de acordo com o material pesquisado

Casa	Indivíduo	Bactérias potencialmente patogênicas	Parasitas	
			Protozoários	Helmintos
C06	079	<i>Salmonella enterica</i> Subesp enterica - sorovar - O30	<i>Giardia lamblia</i>	
C09	123	<i>Salmonella enterica</i> Subesp enterica - sorovar Newport	<i>Entamoeba coli</i> <i>Entamoeba dispar</i>	<i>Hymenolepis nana</i>
C12	172	<i>Escherichia coli</i> EPEC (Poli A)		<i>Enterobius vermicularis</i>
C15	265	<i>Escherichia coli</i> EPEC (Poli A)		<i>Ascaris lumbricoides</i>

CONCLUSÃO

A partir do presente estudo, é possível inferir que a falta de infraestrutura sanitária mínima parece contribuir para a contaminação dos solos e mananciais de água contíguos às aldeias com dejetos e outras formas de matéria orgânica, aumentando as chances de proliferação de formas infectantes bacterianas, muitas vezes associadas a helmintos e protozoários. Desse modo, o controle das infecções intestinais no povo Xavante deve considerar a possibilidade de um programa de saneamento que leve em conta a higiene pessoal, as habitações e o meio ambiente.⁽⁴²⁾

Este trabalho sugere que os estudos desta natureza devam prosseguir com regularidade para um melhor enten-

dimento da história natural das doenças nas populações indígenas.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer às lideranças e ao povo Xavante pelo acolhimento, nos recebendo da melhor forma possível, deixando-nos participar de seu dia a dia e conviver com suas famílias, tornando o trabalho na aldeia mais agradável.

Ao Dr. Carlos Everaldo Alvares Coimbra Junior, que possibilitou nossa entrada na aldeia Xavante e que foi responsável, junto com o Dr. Adauto José Gonçalves de Araújo, por um grande projeto do qual este trabalho surgiu como complementar.

O projeto de pesquisa que gerou esta investigação foi aprovado pelo Comitê de Ética da Escola Nacional de Saúde Pública, da Fundação Oswaldo Cruz, e submetido, posteriormente, à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), tendo sido aprovado em 7 de setembro de 2004. Foi apreciado também pela Fundação Nacional do Índio (FUNAI) e pelas lideranças indígenas Xavante. Este trabalho foi realizado como complementar ao projeto "Epidemiologia das gastroenterites na população indígena Xavante (Mato Grosso) com ênfase no diagnóstico e diferenciação de *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar*", dos pesquisadores Carlos Everaldo Álvares Coimbra Júnior e Adauto Araújo.

Abstract

In this study, the data of a research of enterobacteria from excrements in transport media, conducted among the Xavante amerindian group of Mato Grosso, Brazil, are presented. The results had demonstrated through the classic technique of isolation, biochemist and serological investigation, the presence of two bacterial genera important causes of diarrhoea: Salmonella enterica and Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC). These same samples, searched for other not bacterial agents, had also indicated in 40% of the cases association with other parasites, suggesting a direct relation with low salubrity of the community and the need to implement basic sanitation.

Keywords

Xavante; Bacterial diarrhoea; Salmonella enterica; Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC)

REFERÊNCIAS

- Silva AL. Povos Indígenas do Brasil - Xavante. Texto publicado no catálogo *O Índio Imaginado Mostra de Filmes e Vídeos sobre Povos Indígenas no Brasil*, CEDI/ SMC-SP, 63 p. 1992. In: Enciclopédia - Instituto Socioambiental. Disponível em: <http://www.socioambiental.org/pib/epi/xavante/xavante.shtml> Acesso em 01/10/2014.
- Leite MS, Santos RV, Gugelmin SA, Coimbra Jr CEA. Crescimento físico e perfil nutricional da população indígena Xavante de Sangradouro-Volta Grande, Mato Grosso, Brasil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro. 2006;22(2):265-76.
- Silva AL. Dois séculos e meio de história Xavante. In: *História dos Índios no Brasil* (M. C. Cunha, org.). São Paulo: Companhia das Letras, 1992.
- Gugelmin SA. Nutrição e alocação de tempo dos Xavante de Pimentel Barbosa, Mato Grosso: Um Estudo em Ecologia Humana e Mudanças. Rio de Janeiro, BR: Dissertação de Mestrado, Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, 1995.
- Santos RV, Flowers N, Coimbra Jr CEA, Gugelmin SA. Tapirs, tractors, and tapes: The changing economy and ecology of the Xavante Indians of Central Brazil. *Hum Ecol*. 1997;25(4):545-66.
- Lawrence DN, Neel JV, Abadie SH, Moore LL, Adams LJ, Healy GR, Kagan IG. Estudos epidemiológicos entre populações ameríndias da Amazônia. Parasitoses intestinais em povoações recentemente contactadas e em aculturação. *Acta Amazônica*. 1983;13:393-407.
- Linhares AC. Epidemiologia das infecções diarreicas entre populações indígenas da Amazônia. *Cad Saúde Pública*. 1992;8:121-8.
- Fontbonne A, Freese-de-Carvalho E, Acioli MD, Sá GA, Cesse EAP. Fatores de risco para poliparasitismo intestinal em uma comunidade indígena de Pernambuco, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2001;17: 367-73.
- Nogueira JMR, Rodrigues DP, Hofer E. Viability of *Vibrio cholerae* O1 in different types of water under experimental conditions. *Cad. Saúde Pública*. 2002;18(5):1339-45.
- Coimbra Jr. CEA, Flowers NM, Salzano FM, Santos R. *The Xavante in Transition: Health, Ecology, and Bioanthropology in Central Brazil*. Ann Arbor: University of Michigan Press, 2002.
- Sociedade Internacional de Linguística - SIL. Xavante. Disponível em: <http://www.sil.org/americas/brasil/langpage/portxvpg.htm>, Acesso em 12/10/2014.
- Coimbra JR. CEA, Mello DA. Enteroparasitas e *Capillaria* sp. Entre o grupo Suruí, Parque Indígena Aripuanã, Rondônia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 1981;76:299-302.
- Vieira GO. 2003. Enteroparasitoses em populações indígenas no Brasil: uma revisão sistemática da produção científica. Dissertação de mestrado, Rio de Janeiro, BR: Fiocruz, ENSP, 2003.
- Santos RV, Coimbra Júnior CE, Flowers NM, Silva JP. Intestinal parasitism in the Xavante Indians, Central Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1995 Mar-Apr;37(2):145-8.
- Palhano-Silva CS, Lourenço AEP, Bastos OMP, Coimbra Jr. CEA, Araújo AJG. Prevalência de parasitoses intestinais na população indígena Suruí, Rondônia, Brasil. *Rev Patol Trop*. 2005;34 . Suppl. CD-ROM.
- Salzano FM, Callegari-Jacques SM. *South American Indians: A Case Study in Evolution*. Oxford: Clarendon Press, 1988.
- Gugelmin SA, Santos RV, Leite MS. Physical growth of five to ten year old Xavante Indian children in Mato Grosso. *J Pediatr (Rio J)*. 2001 Jan-Feb;77(1):17-2. [Article in Portuguese].
- Escobar AL, Coimbra CE Jr, Welch JR, Horta BL, Santos RV, Cardoso AM. Diarrhea and health inequity among Indigenous children in Brazil: results from the First National Survey of Indigenous People's Health and Nutrition. *BMC Public Health*. 2015 Feb 27;15:191. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2458/15/191>. Acesso em 23/09/2015.
- Coimbra Jr. CEA, Santos RV. 2001. Perfil Epidemiológico da População Indígena no Brasil: Considerações Gerais - Documento de Trabalho no. 3. Porto Velho. 40p. Disponível em: www.cesir.org/pdfs/doc3.pdf Acesso em 16/07/2015.
- Ianelli RV, Coimbra Jr. CEA, Santos RV. Perfil de morbi-mortalidade entre os índios Xavante de Mato Grosso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 1996;29 (Supl. 1): 256. In: Santos RV, Coimbra Jr. CEA. Perfil Epidemiológico da População Indígena no Brasil: Considerações Gerais documento de trabalho 3. Brasil: Fiocruz, 2001.
- Gugelmin SA, Santos RV. Ecologia humana e antropometria nutricional de adultos Xavante, Mato Grosso, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2001;17:313-22.
- Souza LG, Santos RV. Perfil demográfico da população indígena Xavante de Sangradouro-Volta Grande, Mato Grosso, Brasil (1993-1997). *Cad. Saúde Pública*. 2001;17:355-65.
- Medeiros MI, Neme SN, da Silva P, Capuano DM, Errera MC, Fernandes SA, et al. Etiology of acute diarrhea among children in Ribeirão Preto-SP, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2001 Jan-Feb;43(1):21-4.
- Almeida IAZC, Rodrigues ECA, Marques DF, Duarte VLS, Guimarães EQ. Frequência de isolamento de enterobactérias patogênicas na região de São José do Rio Preto-SP, p.175. In: Reunião anual do instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 1997.
- Cary SC, Blair EB. New transport medium for shipment of clinical specimens. I. Fecal Specimens. *J Bacteriol*. 1964 Jul;88:96-8.
- Costa G.A, Hofer E. Isolamento e identificação de Enterobactérias (monografia). Rio de Janeiro, Br: Instituto Oswaldo Cruz, 1972.

27. Ewing WH. Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae. EUA, New York: Elsevier, 1986.
28. Nogueira JMR, Miguel LFS. Bacteriologia. In: Molinaro EM, et al. Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde. Rio de Janeiro: Fiocruz. 1a.ed.;4, 221-397p. 2010.
29. Le Minor L. Typing of Salmonella species. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1988 Apr;7(2):214-8.
30. Filgueiras ALL, Hofer E. Ocorrência de Campylobacter termofílico em diferentes pontos de uma estação de tratamento de esgotos na cidade do Rio de Janeiro, RJ. Revista de Microbiologia de São Paulo. 1989;20:303-8.
31. Escobar AL, Santos RV, Coimbra Jr CEA. Avaliação nutricional de crianças indígenas Pakaanóva (Wari'), Rondônia, Brasil. Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil. 2003;3:457-61.
32. Gomes TA, Rassi V, MacDonald KL, Ramos SR, Trabulsi LR, Vieira MA, et al. Enteropathogens associated with acute diarrheal disease in urban infants in São Paulo, Brazil. J Infect Dis. 1991 Aug;164(2):331-7.
33. Torres AL, Viaro T, Kallas MR, Trabulsi LR, Fagundes Neto U. Cidade Leonor slum, São Paulo. III. Environmental contamination and natural feeding practice. Rev Paul Med. 1991 Nov-Dec; 109(6):273-7. [Article in Portuguese].
34. Tankson JD, Fedorka-Cray P, Headrick M. 2000 NARMS Report of Salmonella Newport Slaughter and On-Farm Isolates. Abstr Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother 43:14-17. Abstract C2-866. USDA/ARS/ARRU, Athens: Grecia, 2003.
35. Poppe C, Martin LC, Gyles CL, Reid-Smith R, Boerlin P, McEwen SA, et al. Acquisition of resistance to extended-spectrum cephalosporins by Salmonella enterica subsp. enterica serovar Newport and Escherichia coli in the turkey poult intestinal tract. Appl Environ Microbiol. 2005 Mar;71(3):1184-92. Disponível em: <http://aem.asm.org/cgi/content/abstract/71/3/1184>. Acesso em 22/05/2015.
36. Hofer E, Filho SJS, Reis EMF. Sorovares de Salmonella isolados de matérias-primas e de ração para aves no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 1998;18:21-27. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v18n1/0903.pdf>. Acesso em 19/08/2015.
37. Silva JA., Silva WD. Escherichia coli enteropatogênica (EPEC), ao contrário da Escherichia coli comensal, adere, sinaliza e lesa enterócitos. Rev Patol Trop 2005;34:175-96.
38. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic Escherichia coli. Clin Microbiol Rev. 1998 Jan;11(1):142-201. Erratum in Clin Microbiol Rev. 1998 Apr;11(2):403.
39. USFDA-United State Food and drug administration. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. Enteropathogenic Escherichia coli. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap14.html>. Acesso em 26/06/2015.
40. Gomes TAT, Griffin PM, Ivey C, Trabulsi LR, Ramos SRTS. EPEC infections in São Paulo. Rev. Microbiol. 1996;27:25-33.
41. Silva GMV. Parasitos intestinais na comunidade indígena Xavante de Pimentel Barbosa, Mato Grosso, Brasil. Rio de Janeiro. [Dissertação de mestrado em Saúde Pública]. Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca/ Fiocruz. 2010.
42. Ianelli RV, Silva JP, Agostini SM. Parasitoses intestinais nos índios Xavante de Parabubure, Mato Grosso, Brasil. Cad Saúde Pública. 1995;11:630.

Correspondência

Gabriella Mendes Vieira da Silva
Rua Santa Luísa, 6/apto 301 – Maracanã
20550-155 – Rio de Janeiro, RJ
E-mail: gabriellamv@gmail.com

Determinação da atividade de colinesterase plasmática e eritrocitária após exposição aguda a organofosforados e carbamatos em agricultores do município de Chapada, RS

Determination of plasma and erythrocyte cholinesterase activity after acute exposure to organophosphates and carbamates in farmers from Chapada municipality, RS

Greice Haeffner de Oliveira¹
Alexandre Ehrhardt²

Resumo

A utilização indiscriminada de agrotóxicos tem contribuído muito para o aumento das intoxicações ocupacionais em trabalhadores rurais que fazem aplicação dessas substâncias, tornando-se um dos principais problemas de saúde pública no âmbito rural. Entre os pesticidas mais utilizados estão os compostos organofosforados e os carbamatos, que são inibidores da acetilcolinesterase, enzima que atua no organismo humano como mediador químico. Intoxicações por esses compostos podem acarretar diversas alterações, sendo a principal e a de maior risco ao ser humano as de cunho neurológico. O objetivo deste estudo foi avaliar o grau de intoxicação de agricultores do município de Chapada, RS, em decorrência do uso de agrotóxicos organofosforados, antes e após sua aplicação, através da determinação da atividade das enzimas colinesterase plasmática e eritrocitária. Foram determinados os níveis de ambas as colinesterases em 33 trabalhadores rurais, com faixa etária entre 19 e 67 anos, por método cinético e reação colorimétrica, respectivamente. Através das determinações pré e pós-exposição, observou-se que 23 (69,7%) dos indivíduos apresentavam diminuição da atividade enzimática da colinesterase plasmática e 10 (30,3%) da colinesterase eritrocitária, porém essas ainda se apresentaram dentro dos valores de normalidade, conforme a NR7 do Ministério do Trabalho, não sendo essa variação significativa e, portanto, não indicativa de intoxicação aguda relacionada à exposição ocupacional.

Palavras-chave

Organofosforados; Carbamatos; Colinesterase; Intoxicação ocupacional

INTRODUÇÃO

O uso de agrotóxico na agricultura teve início no ano de 1920 e, durante a Segunda Guerra Mundial, foi usado como arma química.⁽¹⁾ A partir disso, com a intensa atividade agrícola, implantaram-se novas tecnologias visando o controle de doenças e pragas,⁽²⁾ tornando-se a principal estratégia no campo para o combate e a prevenção de diferentes patógenos.⁽³⁾

Vários são os termos utilizados para designar os pesticidas, porém, o termo biocidas é o mais recomendado para identificar esses compostos que abrangem os inseticidas, herbicidas, fungicidas, raticidas entre outros. No entanto, vulgarmente, agrotóxico é o termo mais utilizado.⁽⁴⁾

Embora desempenhem papel importante na agricultura, o uso de agrotóxicos tem sido alvo de frequente preocupação em virtude de seu risco ambiental potencial.⁽⁵⁾ No mundo, anualmente, são milhões de casos de intoxicação, sendo que mais de 20 mil indivíduos morrem em consequência de exposições.⁽⁶⁾

O Rio Grande do Sul é o segundo estado em consumo, apresentando a maior taxa de participação em casos de intoxicação por agrotóxicos registrados no país.⁽⁷⁾

Atualmente, mais de 600 princípios ativos são listados e cerca de 3 mil formulações comerciais estão presentes no mercado nacional. Com relação ao uso em escala mundial, os organoclorados são os mais empregados, sendo seguidos pelos organofosforados e, depois, pelos carbamatos.⁽⁴⁾

¹Biomédica.

²Farmacêutico bioquímico. Docente do curso de Biomedicina, Universidade Luterana do Brasil – ULBRA – Carazinho, RS.

Instituição: Universidade Luterana do Brasil – ULBRA – Curso de Biomedicina, Campus Carazinho, RS.

Artigo recebido em 13/09/2010
Artigo aprovado em 25/11/2015

Essas substâncias são introduzidas no meio ambiente obedecendo, a princípio, a critérios técnicos, com o objetivo de impedir ou limitar as ações de espécies animais e vegetais danosas à agricultura. Todavia, essas substâncias são também capazes de produzir efeitos deletérios a outros seres vivos, como o próprio homem e os animais de produção.⁽⁸⁾

O risco de efeitos adversos à saúde humana e animal relacionados ao uso de pesticidas depende, fundamentalmente, do perfil toxicológico do produto, do tipo e da intensidade da exposição experimentada pelos indivíduos e da suscetibilidade da população exposta.⁽⁹⁾

Os tipos de intoxicações que podem ser produzidas incluem a aguda, na qual os sinais surgem rapidamente, algumas horas após a exposição excessiva; a subaguda, que ocorre por exposição moderada e apresenta evolução sintomática mais lenta; e a crônica, onde o surgimento de sinais é mais tardio, podendo levar meses ou anos.⁽¹⁰⁾

A partir da década de 70, os organofosforados passaram a ser os pesticidas mais utilizados no mundo.⁽¹¹⁾ Isso se deve à sua forte atividade biológica, acoplada à relativa instabilidade na biosfera, o que se traduz em uma meia-vida da ordem de dois até dez dias nos vegetais.⁽¹²⁾ Eles apresentam efeito tóxico mais agudo para os seres humanos e outros mamíferos do que os pesticidas organoclorados.⁽⁴⁾ Além disso, podem ser absorvidos pelo organismo tanto pela via oral, respiratória e dérmica quanto pelas membranas mucosas. No entanto, a absorção dérmica é a mais importante via de intoxicação ocupacional em indivíduos que aplicam esses produtos.⁽⁴⁾ De acordo com o Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul (CIT/RS), durante o ano de 2007 foram registrados 948 casos de intoxicações por agrotóxicos, sendo que, desses, 210 foram por organofosforados e 109 por carbamatos.

Um importante indicador da relação entre exposição a agrotóxicos e problemas de saúde é o nível da enzima colinesterase no sangue.⁽¹³⁾ Quanto menor o nível da atividade enzimática, maior o grau de intoxicação.⁽¹⁾

A acetilcolina é uma enzima que atua no organismo humano como um mediador químico ou neuromediador.⁽¹⁴⁾ Ela é inibida na presença de agrotóxicos tanto da classe dos organofosforados quanto dos carbamatos e, devido a essa capacidade, esses compostos também são denominados anticolinesterásicos.⁽¹⁵⁾

No sistema nervoso, os sinais são transmitidos por impulsos elétricos. Esses sinais chegam aos nós sinápticos, excitando as vesículas, que, por sua vez, os repassam, através de mensageiros, para as células seguintes. A acetilcolina transmite os sinais entre as células nervosas e o ácido gama-aminobutírico (GABA) é o mensageiro que faz a comunicação entre as células nervosas e as musculares.⁽¹⁶⁾

O impulso nervoso chega ao terminal axônico do neurônio motor e desencadeia a liberação de acetilcolina, que se liga a seus receptores na placa motora terminal, gerando um potencial de ação muscular.⁽¹⁷⁾ A acetilcolina aumenta a permeabilidade aos íons de sódio, o que permite sua passagem para o interior da fibra muscular, determinando a despolarização da membrana muscular, fazendo, assim, com que o potencial de ação se propague em duas direções, o que provoca a contração da fibra muscular.⁽¹⁸⁾ No entanto, esse efeito causado pela acetilcolina dura pouco tempo. A partir do momento em que a acetilcolina transmite o sinal, ela é removida pela enzima acetilcolinesterase,⁽¹⁶⁾ permitindo que a membrana se repolarize e fique pronta para receber um novo estímulo.⁽¹⁷⁾

A colinesterase apresenta dois sítios, o esterásico e o aniônico, que servem como pontos de ligação para a acetilcolina. Os inseticidas organofosforados e carbamatos possuem uma conformação estrutural que permite a conexão no sítio esterásico da enzima, pelo grupamento fosfato (organofosforados) ou pelo grupo carbamila (carbamatos).⁽⁸⁾ Os organofosforados se ligam somente no sítio esterásico, formando uma ligação covalente e estável, o que torna essa ligação irreversível, podendo durar meses até que haja síntese de novas moléculas de acetilcolinesterase.⁽¹⁹⁾ O mecanismo de hidrólise catalisado pela acetilcolinesterase depende da adição de um resíduo de serina à carbonila do substrato acetilcolina.

Os compostos organofosforados inativam a acetilcolinesterase pela fosforilação no sítio ativo da enzima.⁽¹²⁾ A inibição da colinesterase pelos compostos organofosforados ou carbamatos provoca o acúmulo de acetilcolina e o organismo passa a apresentar uma série de manifestações clínicas, como efeitos muscarínicos, nicotínicos e centrais.⁽¹³⁾

A atividade da colinesterase é derivada da ação de duas enzimas, uma na membrana dos eritrócitos, colinesterase eritrocitária ou acetil-colinesterase, e outra sérica, colinesterase plasmática ou butiril-colinesterase.⁽¹³⁾ A colinesterase plasmática, por ser afetada mais rapidamente, reflete melhor a absorção do inseticida, sendo que sua determinação é importante no início da exposição. Já a colinesterase eritrocitária reflete melhor o estado de inibição da enzima no sistema nervoso, ou seja, o efeito tóxico, por ser afetada mais tardiamente.^(20,21)

O diagnóstico da intoxicação por organofosforados é baseado na história de exposição ou ingestão, sinais e sintomas de hiperestimulação colinérgica e na diminuição da atividade da enzima colinesterase.⁽⁴⁾ De acordo com a Norma Regulamentadora (NR) n° 07 do Ministério do Trabalho (2007), são considerados afetados por essas substâncias tóxicas os indivíduos que apresentarem diminuição de 30% da atividade de colinesterase eritrocitária, 50% de colinesterase plasmática ou 25% de colinesterase plasmática e eritrocitária.

A diminuição do teor da colinesterase plasmática pode permanecer por trinta dias, já a eritrocitária, por noventa dias, após o último contato com os fosforados orgânicos.⁽¹³⁾ Como os níveis de colinesterase variam de um indivíduo para outro, é importante realizar as determinações enzimáticas antes e após o contato com o agrotóxico.⁽¹⁾

O presente estudo teve como objetivo avaliar o grau de conhecimento dos agricultores do município de Chapada, RS em relação ao uso de agrotóxicos organofosforados e carbamatos, considerando se estão ou não conscientes dos possíveis danos que esses podem causar ao organismo quando utilizados inadequadamente, e caracterizar a intoxicação aguda dos indivíduos sob estudo frente ao uso desses agrotóxicos antes e depois de sua aplicação, através da determinação das enzimas colinesterase plasmática e eritrocitária.

MATERIAL E MÉTODOS

A população em estudo constituiu-se de um grupo de trabalhadores rurais do município de Chapada/RS, praticantes de atividade agrícola, envolvidos com a aplicação de agrotóxicos em diversas culturas.

Foi realizado um estudo de coorte, onde foram selecionados 33 agricultores, durante os meses de outubro e novembro de 2009, período em que ocorre a prática do cultivo de soja na região. Os agricultores incluídos nesta pesquisa tinham idade superior a 18 anos, estavam envolvidos com a aplicação ou em contato direto com agrotóxicos e concordaram em participar do estudo. O critério de exclusão foi o não assentimento em relação à participação no estudo, não residir no município de Chapada, RS, ser menor de idade e não ter contato direto com agrotóxicos. Além disso, para a determinação da enzima colinesterase plasmática, foram utilizadas, como critério de exclusão, amostras hemolisadas.

Após a explicação do trabalho a ser realizado, os agricultores incluídos na pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), segundo a Resolução nº196/96 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde, o qual foi aprovado pelo Comitê de Ética para Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), sob o número 2009-197H.

Para a análise completa de dados, foi aplicado a esses agricultores um questionário epidemiológico-ocupacional, que abordou as seguintes variáveis: sexo, idade, nível de escolaridade, dados do estabelecimento rural, uso de equipamentos de proteção individual, tempo de exposição, bem como medidas de higiene adotadas após a aplicação ou o contato com o agrotóxico.

Partindo disso, foram coletadas as amostras de sangue total heparinizado via endovenosa, de acordo com as normas de biossegurança, sendo as coletas realizadas

em duas etapas, uma antes da exposição e outra logo após a exposição aos agrotóxicos, assim que terminado o processo de aplicação no campo. As coletas propostas ocorreram nos meses de outubro e novembro.

A análise da colinesterase eritrocitária foi procedida no Instituto de Toxicologia (INTOX) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), onde foi utilizado o método proposto por Ellman et al.,⁽²²⁾ que se baseia na medida colorimétrica da velocidade de hidrólise da acetilcolina pelas colinesterases sanguíneas.

A determinação da colinesterase plasmática foi realizada no Laboratório Escola do Curso de Biomedicina da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Campus Carazinho, empregando-se a técnica comercial da Wiener® (Wiener Lab Group, Argentina),⁽²³⁾ baseada na reação cinética que utiliza a butiriltiocolina como substrato para a determinação da colinesterase no plasma, com o auxílio do aparelho semiautomatizado Bioplus Bio 200 F® (Bioplus, Brasil). As dosagens foram validadas pela utilização de um controle interno da qualidade (CQI) comercial (Pro-In lote nº 40380801, PNCQ/SBAC).

Para a análise dos resultados das dosagens enzimáticas, foram utilizados os valores de referência de acordo com as respectivas metodologias de dosagens dessas enzimas. Os dados foram analisados estatisticamente pelo t-test de Student, utilizando-se o software SigmaStat (Systat Software, California).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação ao grupo estudado, foram avaliados 33 agricultores, sendo que, desses, 31 (93,9%) eram do sexo masculino e dois (6,1%) eram do sexo feminino, com idade variando entre 19 e 67 anos.

Considerando o grau de escolaridade dos agricultores, verificou-se que sete (21,2%) tinham curso primário incompleto, 13 (39,4%) primário completo, seis (18,2%) ensino médio incompleto, cinco (15,2%) ensino médio completo, um (3%) ensino superior incompleto e um (3%) ensino superior completo. Conforme Oliveira-Silva et al.,⁽²⁴⁾ o grau de escolaridade pode ser um fator limitante do entendimento dos cuidados a serem adotados, que visam a proteção à saúde. No presente estudo, o nível de escolaridade apresentado pelos participantes foi baixo, sendo que a maioria, 13 (39,4%), tinha ensino primário incompleto. Associado a esses dados, 31 indivíduos (93,9%) relataram não ter tido acesso a informação técnica referente aos cuidados de aplicação dos produtos.

Através da avaliação do risco ocupacional, dos 33 indivíduos estudados, todos relataram ter contato direto com agrotóxico e informaram saber os possíveis danos causados pelo emprego e aplicação de substâncias tóxicas, demonstrando o conhecimento da importância

da utilização de equipamentos de proteção individual (EPI). Desse total, trinta (90,9%) fizeram uso de equipamentos de proteção na hora do manejo e aplicação do agrotóxico, enquanto que três (9,1%) não os utilizaram. Os EPIs mais usados estão demonstrados na Tabela I.

Tabela I - Equipamentos de proteção individual utilizados no momento do manejo e aplicação de agrotóxicos

EPIs	N° indivíduos	%
Somente máscara	2	6,7%
Chapéu + botas	1	3,3%
Máscara + óculos	1	3,3%
Luva + botas + chapéu	7	23,3%
Máscara + luvas+ chapéu + botas	2	6,7%
Máscara + luvas	1	3,3%
Chapéu + máscara	2	6,7%
Luvas + óculos	1	3,3%
Máscara + óculos + luvas	2	6,7%
Máscara + óculos + chapéu + botas	5	16,7%
Cabine de proteção	6	20%

Embora alguns indivíduos tenham informado a utilização de EPIs, esses nem sempre são apropriados ou suficientes para assegurar que os indivíduos não sofram nenhum tipo de agressão oferecida pelo uso de agrotóxicos, como é o caso de utilizarem apenas botas e chapéu.⁽²⁴⁾

Da população sob estudo, 33 (100%) afirmaram ter adotado algum tipo de medida de higienização após o contato com substâncias tóxicas, sendo que, dentre essas medidas, estão a lavagem de mãos, banho e troca de roupa. A Figura 1 mostra a relação das principais medidas de higiene tomadas pelos agricultores após o contato com agrotóxicos. Cabe destacar que, apesar de alguns participantes tomarem banho em seguida à exposição aos agrotóxicos, esses continuaram usando a mesma roupa de trabalho, o que pode caracterizar uma exposição subaguda continuada.

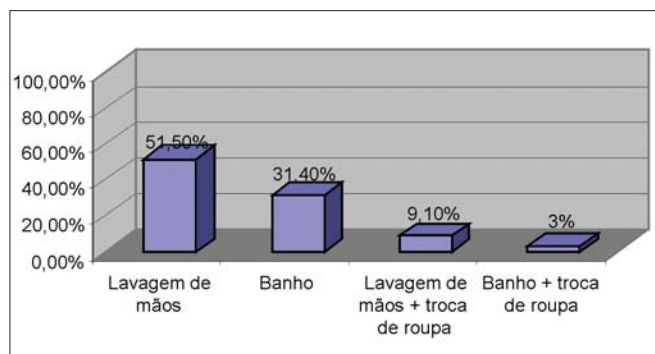


Figura 1. Gráfico demonstrando percentual de medidas de higiene adotadas após contato direto com os agrotóxicos.

Com relação ao tempo de exposição diária, quatro indivíduos (12,1%) ficaram expostos aos agrotóxicos durante uma hora por dia; 13 (39,4%) durante duas horas; 11 (33,3%) durante três horas, 4 (12,2%) durante quatro horas e um (3,0%) durante oito horas. Contudo, desses, 18 (54,6%) aplicaram agrotóxicos uma vez por mês, 13 (39,4%) duas vezes por mês, e dois (6,0%) três vezes por mês. Na Figura 2 está representado o período de tempo entre o último contato dos agricultores com os agrotóxicos utilizados e a coleta das amostras clínicas.

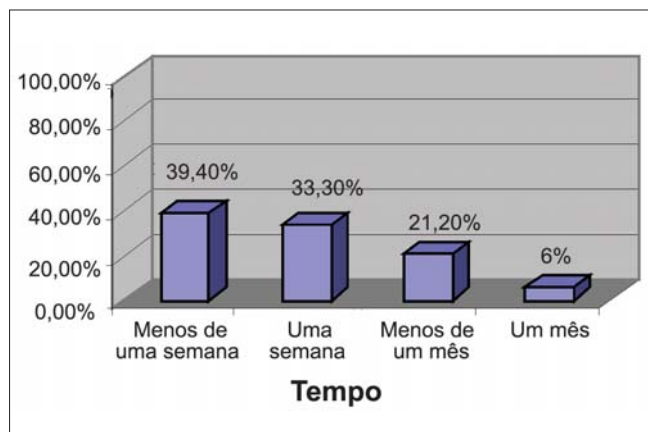


Figura 2. Gráfico do percentual de agricultores em relação à última exposição ocupacional por agrotóxicos.

O período da última exposição ocupacional por agrotóxicos antes da coleta é um fator importante. De acordo com o presente estudo, o período de tempo máximo descrito foi de um mês, correspondendo a dois (6%) dos agricultores, e o período mínimo foi de menos de uma semana, associado a 13 (39,4%) agricultores. Com relação ao tempo de exposição, esse variou entre 1-8 horas, sendo que a maioria dos indivíduos, 13 (39,4%), relatou até duas horas de contato com as substâncias e um (3,0%) informou ter ficado exposto durante oito horas.

Durante o estudo, 31 (93,9%) indivíduos relataram que não receberam orientação técnica profissional, com exceção das recomendações obtidas nas bulas sobre o uso de agrotóxico, e apenas dois (6,1%) relataram que receberam informações do agrônomo responsável na hora da compra do produto.

Da população estudada, somente 11 (33,3%) sabiam a que tipo químico pertenciam os agrotóxicos utilizados, enquanto que 22 (66,7%) indivíduos não sabiam dizer a qual grupo as substâncias pertenciam. A Figura 3 mostra as classes a que pertencem cada agrotóxico utilizado pelos agricultores.

Diferentemente do estudo realizado por Soares et al.,⁽¹³⁾ onde o grupo químico dos agrotóxicos utilizados era conhecido dos agricultores, neste estudo, a maioria dos trabalhadores (66,70%) desconhecia a qual classe

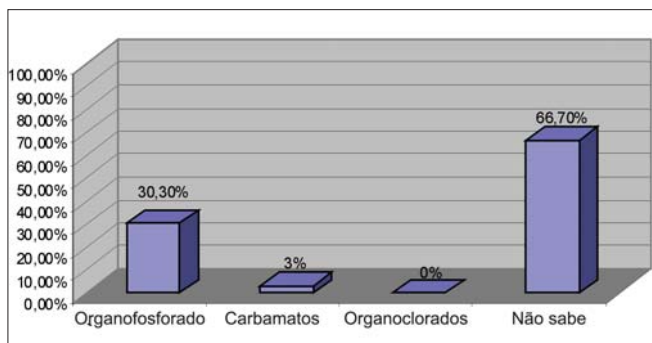


Figura 3. Gráfico da classe de agrotóxicos utilizados pela população em estudo.

pertenciam os agrotóxicos por eles manipulados. Contudo, presume-se que os agrotóxicos empregados pertençam aos organofosforados ou carbamatos, por serem os mais difundidos.

Avaliando-se o grupo estudado em relação às determinações da enzima colinesterase plasmática, observou-se que 23 (69,7%) agricultores apresentaram diminuição na colinesterase plasmática quando comparadas as análises pré e pós-exposição, contudo, essa diminuição não foi estatisticamente significativa. A média das análises pré-exposição foi de 9787,48 ($\pm 1967,2$) e a média das análises pós-exposição foi de 9208,69 ($\pm 1568,1$). Os resultados encontrados são mostrados na Figura 4.

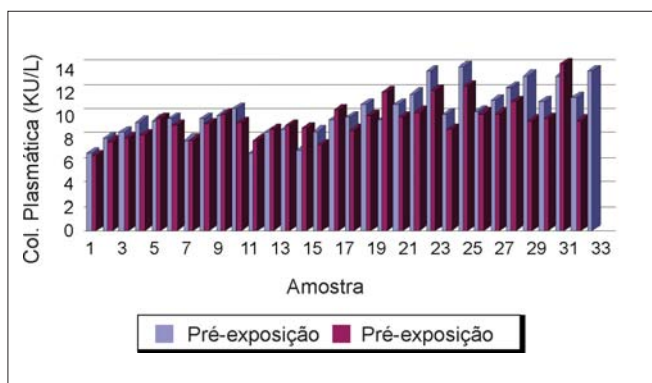


Figura 4. Gráfico das dosagens da enzima colinesterase plasmática na fase pré-exposição e pós-exposição a agrotóxicos.

Em relação à colinesterase pré-eritrocitária, a análise pré-exposição apresentou uma média de 14,87 ($\pm 1,78$) e a análise pós-exposição revelou uma média de 14,65 ($\pm 1,76$) (Figura 5). Dos agricultores avaliados, dez (30,3%) apresentaram diminuição da atividade enzimática quando comparadas as análises antes e após o contato direto com os agrotóxicos, porém, essa diminuição não foi estatisticamente significativa.

Os resultados obtidos indicam que não houve casos de intoxicação, apesar de 23 (69,7%) apresentarem diminuição da colinesterase plasmática e dez (30,3%) da

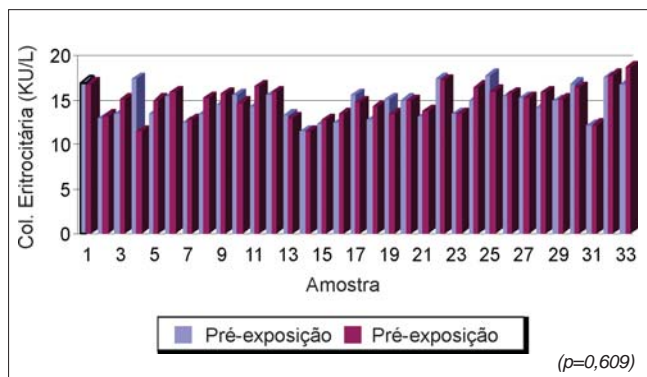


Figura 5. Análise da enzima colinesterase eritrocitária pré-exposição e pós-exposição à agrotóxicos.

colinesterase eritrocitária quando comparadas ambas as análises pré e pós-exposição. No entanto, essa diminuição não teve significância estatística para a consideração de uma intoxicação. De acordo com a NR7,⁽²⁵⁾ são considerados com intoxicação os indivíduos que apresentam diminuição de 30% da atividade de colinesterase eritrocitária, 50% de colinesterase plasmática ou 25% de colinesterase plasmática e eritrocitária, taxas que, todavia, também não foram verificadas nesta avaliação.

Ao se compararem os resultados encontrados neste trabalho com os informados por Soares et al.,⁽¹³⁾ é possível verificar diferenças importantes no nível de intoxicações, já que esses autores evidenciaram um alto grau de intoxicação por organofosforados e carbamatos, tendo em vista que 50,3% dos indivíduos analisados foram considerados intoxicados pelas dosagens realizadas.

CONCLUSÃO

As atividades das enzimas colinesterásicas nos agricultores analisados, mesmo apresentando redução após exposição aguda, não caracterizaram quadros de intoxicação. Cabe destacar que essa redução não significativa pode estar diretamente relacionada com o uso de EPIs e também ao curto período de exposição evidenciado na pesquisa. Este estudo reafirma a importância do uso de EPIs para a proteção dos profissionais que lidam diretamente com os compostos avaliados.

Agradecimentos

Os autores são gratos à Dra. Anelise Ehrhardt, professora da UNIVALI, pelas sugestões referentes ao artigo.

Abstract

The indiscriminate use of pesticides has greatly contributed to increase occupational exposures in agricultural workers who realize dispersion of these substances in the crops, turning it a major public health issue in rural areas. Among the most commonly used pesticides are the organophosphates and carbamates, known

as inhibitors of acetylcholinesterase, an enzyme that acts in the human body as a chemical mediator. Poisoning by these compounds can cause several alterations, being neurological disorder the main and the most risky to humans. The aim of this study was to evaluate, in the municipality of Chapada, RS, if the farmers were poisoned, comparing results before and after the diffusion of organophosphate pesticides in the crops (pre- and post-exposure), by measuring the activities of plasma and erythrocyte cholinesterases. It was determined the levels of plasma and erythrocyte cholinesterases in 33 rural workers, aged between 19 and 67 years old, by kinetic method and colorimetric reaction, respectively. Through the pre- and post-exposure determinations, it was observed that 23 individuals (69.7%) showed a decrease in the enzymatic activity of plasma cholinesterase enzyme and 10 individuals (30.3%) in the erythrocyte cholinesterase enzyme. Nevertheless, the enzymes levels fit within the range of normality according to R7 Standard from Work Ministry, being this a non-significant variation and therefore non-indicative of acute intoxication related to occupational exposure.

Keywords

Organophosphate; Carbamate; Cholinesterase; Occupational poisoning

REFERÊNCIAS

- Ribeiro ACC, Mella EAC. Intoxicação ocupacional por organofosforados - A importância da dosagem de colinesterase. Iniciação Científica CESUMAR. 2007 jul./dez;9(2):125-34.
- Moreira JC, et al. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. Ciência & Saúde Coletiva. 2002;7(2):299-311.
- Caldas ED, de Souza LCKR. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. Saúde Pública, São Paulo. 2000 out;34(5):529-37.
- Passagli M, et al. Toxicologia Forense: teoria e prática. Campinas: Millennium, 2008
- Faria ST, et al. Intoxicação por chumbinho: caso clínico atendido no centro de Controle de Intoxicações de Maringá. IV Fórum de Extensão e Cultura da UEM: Perspectivas de Extensão Universitária e da Prestação de Serviços. Arq Mudi. 2006;10 (Supl.1).
- Pires DX, Caldas ED, Recena MCP. Intoxicações provocadas por agrotóxicos de uso agrícola na microrregião de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, no período de 1992 a 2002. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro. 2005 mai/jun;21(3):804-14.
- Dellagrave E, Ferreira EM, Sartori AS. Intoxicações por agrotóxicos reportadas ao Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul com ênfase em herbicidas. In: Centro De Informação Toxicológica. Toxovigilância - Toxicologia Clínica: dados e indicadores selecionados Rio Grande do Sul 2005. Porto Alegre: CIT/RS, 2006
- Gallo D, et al. Entomologia Agrícola. Piracicaba: FEALQ, 2002.
- Delgado IF, Paumgarten FJR. Intoxicações e uso de pesticidas por agricultores do Município de Paty do Alferes, Rio de Janeiro, Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro. 2004;20(1):180-6. Feb. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2004000100034>.
- Faria N MX, et al. Trabalho rural e intoxicações por agrotóxicos. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro. 2004 set-out;20(5):1298-1308.
- Araujo AJ, et al. Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos na saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. Ciência & Saúde Coletiva. 2007; 12(1):115-30.
- Dos Santos VMR, Donnici CL, Dacosta JBN, Caixeiro JMR. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. Química Nova, [s.l.]. 2007;30(1):159-70.
- Soares W, Almeida RMVR, Moro S. Trabalho rural e fatores de risco associado ao regime de uso de agrotóxicos em Minas Gerais, Brasil. Cad. Saúde Pública. 2003 jul-ago;11(4):1117-27.
- Klinke R, Silberman S. Tratado de fisiologia. 4a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- Peres F, et al. Desafios ao estudo da contaminação humana e ambiental por agrotóxicos. Ciência & Saúde Coletiva. Rio de Janeiro. 2005 set/dez;10 supl. 0.
- Coutinho CFB, et al. Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. Pesticidas: r.ecotoxicol. e meio ambiente, Curitiba. 2005 jan/dez;15:65-72.
- Tortora GJ, Grabowski SR. Corpo Humano: fundamentos de anatomia e fisiologia. 6 ed. Porto-Alegre: Artmed, 2006.
- Guyton AC. Fisiologia Humana. 6a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.
- Oga S. Fundamentos de Toxicologia. 2a. ed. São Paulo: Atheneu, 2003.
- Siqueira MEP de, Fernícola NAIGG de; Borges EL. Determinação de níveis normais de colinesterase plasmática e eritrocitária. Saúde Pública, São Paulo. 1978;12:340-4.
- Eddleston M, Szinicz L, Eyer P, Buckley N. Oximes in acute organophosphorus pesticide poisoning: a systematic review of clinical trials. Qjm. 2002 May;95(5):275-83.
- Elman et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem.Pharmacol. 1961;7:88-95,
- Szasz G. Clin. Chim. Acta 19:191 (1968).
- Oliveira-Silva JJ, et al. Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. Saúde Pública, São Paulo. 2001 fev;35(2):130-5.
- Brasil. NR7 - Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional de 8 de junho de 1978. Disponível em: http://www.mte.gov.br/legislação/normas_regulamentadoras/nr07at.pdf. Acesso em: 17 jul.2009.

Correspondência

Alexandre Ehrhardt

Universidade Luterana do Brasil – ULBRA – Campus Carazinho

Curso de Biomedicina

BR 285, KM 335 s/n – Bairro Nova Ouro Preto

99500-000 – Carazinho, RS, Brasil

Fone/Fax: (54) 3329 1111

Marcadores bioquímicos de lesão do miocárdio como consequência do Infarto Agudo do Miocárdio: estudo exploratório

Biochemical markers to detection of Acute Myocardial Infarction: exploratory study

Karina da Rocha

Resumo

O infarto agudo do miocárdio (IAM) afeta milhões de indivíduos no mundo todo. Para o diagnóstico, é feita a análise dos sintomas clínicos, do histórico de doenças pessoais e de familiares e dos resultados de exames laboratoriais, como os valores séricos da creatinoquinase (CKT) e sua fração (CKMB) e a troponina I. O presente estudo teve como objetivo identificar e quantificar os exames e marcadores bioquímicos mais utilizados para o diagnóstico de IAM. Os dados foram avaliados a partir da estatística descrita e expressos na forma de distribuição de frequência. Os resultados indicaram uma maior frequência de IAM no inverno do que no verão. Em relação ao gênero, observou-se uma frequência de IAM maior em homens. Os marcadores de lesão tecidual empregados para detecção do IAM foram CKT, CKMB e troponina. No período de verão: 23% para troponina frente a 43% da CKT e 34% de CKMB. No período de inverno: 25% para troponina frente a 41% de CKT e 34% de CKMB. A partir dos dados obtidos, constatou-se uma maior ocorrência de IAM no sexo masculino, sendo que no período do inverno concentrou os maiores taxas. Em relação aos marcadores, a CKT e CKMB foram os mais utilizados.

Palavras-chave

Marcadores de dano tecidual; Coração; Infarto agudo do miocárdio

INTRODUÇÃO

Infarto agudo do miocárdio (IAM) também conhecido como infarto do coração, enfarte ou ataque cardíaco é a necrose de parte do músculo cardíaco, devido à obstrução do fluxo sanguíneo das artérias coronárias para o coração.⁽¹⁾

O infarto do coração afeta milhões de pessoas em todo o mundo, sendo de extrema gravidade. No Brasil, cerca de 66 mil pessoas morrem todos os anos e muitas desenvolvem problemas cardiológicos permanentes quando o atendimento médico não ocorre imediatamente aos sintomas. (Ministério da Saúde, 2012). Em decorrência disso, é de extrema importância o reconhecimento de um episódio de infarto para a instituição de tratamento efetivo, que dever ser estabelecido dentro da primeira hora de início dos sintomas.

O infarto do miocárdio está, principalmente, relacionado à Doença Arterial Coronariana (DAC), na qual há formação de ateromas nas paredes das artérias coronárias (aterosclerose), determinando obstruções. A obstrução parcial das artérias pode determinar isquemias. No entanto,

quando as placas ateromatosas obstruem totalmente o fluxo sanguíneo para o coração, o músculo cardíaco começa a necrosar pela falta de oxigenação, favorecendo a ocorrência do processo de infarto.⁽¹⁾

O IAM pode estar também relacionado a um severo espasmo coronariano, que leva ao colapso das paredes das artérias e à interrupção do fluxo sanguíneo ao coração. Outras doenças como hipertensão arterial sistêmica, hipercolesterolemia, *Diabetes Mellitus* e obesidade são, igualmente, fatores de pré-disposição. A prática do fumo, falta de exercícios, condições de estresse físico e emocional ligadas às pressões do ambiente de trabalho e fatores de risco que não podem ser controlados, como idade (o risco aumenta para homens acima de 45 anos ou para mulheres acima de 55 anos ou após a menopausa) e histórico familiar (o risco aumenta se o pai ou um irmão foi diagnosticado antes de 55 anos de idade ou se a mãe ou irmã for diagnosticada antes de 65 anos de idade), são elementos que concorrem, da mesma forma, para o infarto.⁽²⁾

Os sintomas mais comuns relacionados ao infarto do miocárdio são dor precordial ou desconforto torácico,

Bióloga. Bacharelado – Universidade Federal de São Carlos – UFSCar (Campus Sorocaba) – Sorocaba, SP.

Instituição: Universidade Metodista de Piracicaba – UNIMEP – Piracicaba, SP.

Artigo recebido em 29/08/2012

Artigo aprovado em 30/11/2015

geralmente, no centro do tórax, de grau moderado a intenso, podendo durar por alguns minutos ou ser intermitente. Tais sintomas variam muito de um indivíduo para outro, podendo, em alguns casos, se assemelhar com sintomas de indigestão, queimação estomacal ou azia.⁽²⁾ Outros sintomas relacionados são a sensação de mal-estar na parte superior do corpo, nos ombros, braços, costas, pescoço, mandíbula, respiração curta, inquietação, taquicardia, suor, palidez da pele, náuseas, vômitos, tonturas, confusão mental e desmaios.⁽³⁾

Para o diagnóstico, deve ser feita a análise dos sintomas, do histórico de doenças pessoais e familiares, dos resultados de exames laboratoriais, tais como o eletrocardiograma (ECG), que detecta alterações na presença de um infarto, assim como arritmias cardíacas causadas pelo próprio infarto, através de alterações da repolarização ventricular, dosagem de marcadores citoplasmáticos, como troponina, CK-Total (CK-T), CK-MB, mioglobina, AST e LDH, angiografia coronariana, que representa a passagem de um cateter através de um vaso sanguíneo, o que, sendo identificada uma obstrução, permite que essa seja desfeita no momento do procedimento para restaurar o fluxo sanguíneo normal, para o coração.⁽⁴⁾

Deve ser ressaltado, no entanto, que muitos dos marcadores citoplasmáticos rotineiramente empregados no diagnóstico do IAM podem ocorrer também em diversos outros tecidos, diminuindo, assim, a especificidade da determinação dos seus níveis no sangue.⁽⁵⁾ É o caso da mioglobina, uma hemoproteína citoplasmática encontrada tanto no músculo cardíaco quanto em músculos periféricos. Desse modo, apesar de ser uma proteína cardíaca, comumente não é utilizada para o diagnóstico do IAM, devido à sua inespecificidade.⁽⁶⁾ O mesmo acontece com os marcadores TGO (Transaminase glutâmico-oxalacética), que também são encontrados no coração, fígado, rins e na musculatura, e LDH (Lactato desidrogenase), que apresenta concentrações no miocárdio, rins, fígado, hemácias e músculo esquelético.⁽⁷⁾

Na verdade, marcadores citoplasmáticos enzimáticos como a creatinoquinase (CK), cuja fração MB (CK-MB) está predominantemente presente nas células do miocárdio,⁽⁸⁾ são, efetivamente, os mais requeridos e indicados para a detecção de IAM.⁽⁵⁾ Ocorrendo infarto do miocárdio, esse tecido é lesionado, liberando na circulação componentes intracelulares. A CK e suas isoenzimas (CK-MB), bem como as troponinas cardíacas (cTnT e cTnI), as quais podem ser detectadas praticamente ao mesmo tempo do evento do infarto,⁽⁹⁾ podem ser dosadas, frequentemente, muitas vezes no período de 24 horas.

De fato, a CK, quando se apresenta em altos níveis, pode indicar infarto do miocárdio, lesão da musculatura

cardíaca e doença muscular cardíaca congênita, mas também lesão da musculatura esquelética, injeções intramusculares, acidente vascular cerebral, hipotireoidismo, doenças infecciosas, embolia pulmonar, hipertermia maligna, convulsões generalizadas, neoplasias de próstata, vesícula e trato gastrointestinal. Sendo assim, não é uma enzima específica do músculo cardíaco, mas se encontra entre os marcadores mais utilizados. Isso está, fundamentalmente, relacionado à presença de sua isoenzima CK-MB e à quantificação de seus valores. A CK-MB eleva-se quando ocorre isquemia em uma determinada região do músculo cardíaco. Esse aumento é máximo entre 12 e 24 horas, retornando a níveis normais dentro de 48 a 72 horas. Quando ocorre IAM, os valores de CK-MB apresentam-se superiores a 16 U/L e entre 4% a 25% do valor de CK-T. Após cirurgias cardíacas, a CK-MB pode também apresentar níveis elevados por até 6-8 horas decorridas do procedimento cirúrgico, persistindo ainda por cerca de 2-3 dias.⁽⁸⁾

Marcadores bioquímicos de injúria miocárdica tais como o grupo de proteínas reguladoras localizadas no miocárdio e no músculo estriado, denominadas de troponinas, podem ser também empregadas. As troponinas podem existir nas formas C, I e T.⁽⁹⁾ A troponina C é parte integrante tanto no músculo esquelético como do cardíaco, diferentemente das formas I e T, o que facilita o diagnóstico do IAM.⁽¹⁰⁾ A sensibilidade das troponinas na detecção da injúria miocárdica é maior do que a da CK-MB, pois podem ser detectadas por um considerável período de tempo, isso é, em até cinco dias para cTnI ou em até sete a dez dias para cTnT.⁽⁹⁾

Atualmente, existem no mercado alguns testes para detecção da troponina I, porém ainda são de elevado custo. Nesse sentido, um dos métodos mais utilizados é o imunocromatográfico para determinação rápida e qualitativa. O teste é capaz de detectar concentrações de cTnI iguais ou superiores a 0,5 ng/mL, sendo específico no auxílio da confirmação de um IAM, apresentando sensibilidade de 98,6% e a especificidade de 99,2%.⁽¹¹⁾

Antes mesmo de confirmado o diagnóstico de IAM, alguns tratamentos são iniciados pelo médico assistente diante da primeira suspeita. Esses incluem a inalação de oxigênio para melhorar a oxigenação e a instituição de medicamentos para a dor torácica (analgésicos), para prevenir a formação de coágulos sanguíneos (ácido acetil-salicílico), para reduzir a sobrecarga de trabalho do coração e melhorar o fluxo de sangue (nitroglicerina).⁽¹²⁾

Após o diagnóstico, tratamentos mais específicos são iniciados para se tentar restaurar, o mais prontamente possível, o fluxo sanguíneo. Os medicamentos mais utilizados são trombolíticos, que desintegram o coágulo no interior das coronárias, betabloqueadores, que diminuem

a sobrecarga do coração, inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECA), que controlam a pressão arterial e reduzem a tensão do músculo cardíaco, anticoagulantes para a prevenção da formação de coágulos e outras medicações para reduzir a dor, ansiedade ou tratar arritmia.⁽¹²⁾

O infarto agudo do miocárdio era primariamente relatado em homens, mas esse cenário epidemiológico vem se alterando com o tempo, provavelmente em decorrência do aumento da pressão e carga laboral, uso de fumo e falta de exercícios físicos, fatores esses que eram mais frequentemente observados no gênero masculino do que no feminino.⁽¹³⁻¹⁵⁾

Diante da gravidade e dos inúmeros problemas relacionados ao não pronto diagnóstico de IAM, torna-se necessário maior avaliação sobre as formas de diagnóstico laboratorial, a partir da comprovação da injúria do miocárdio. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi identificar e quantificar os marcadores bioquímicos mais utilizados na rotina do laboratório clínico em casos de suspeita de IAM, bem como avaliar a prevalência em relação ao gênero e ao período de ocorrência sazonal (inverno/verão).

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O presente estudo representa uma pesquisa descritiva e exploratória. Para tanto, foram avaliados os registros clínicos de pacientes de ambos os gêneros com suspeita de IAM pertencentes a um laboratório do interior do estado de São Paulo, que atende pacientes internos de um hospital e a dois pronto-socorros.

Coleta de dados

A partir das informações contidas no banco de dados interno do laboratório, foi quantificado o número total de exames realizados para o diagnóstico de IAM, o gênero e o marcador de lesão tecidual, dentre estes CK-T (Total), CK-MB e troponina I. Os dados foram coletados entre os anos de 2011 e 2012, contemplando dois momentos: período de inverno (junho a agosto de 2011) e período de verão (dezembro de 2011 a fevereiro de 2012). O sigilo das informações acerca dos pacientes foi preservado.

Os dados foram avaliados por estatística descritiva. Os resultados foram expressos na forma de distribuição de frequência nas categorias: período do ano (verão ou inverno), gênero e marcador de lesão tecidual. A comprovação da ocorrência do IAM descrito nos resultados do presente estudo foi baseada nos valores elevados da creatinoquinase e testes positivos das troponinas I, em relação aos valores de referência.

RESULTADOS E CONCLUSÃO

No período de verão (dezembro de 2011 a fevereiro de 2012), foram feitos 788 exames para CK-T (43% do total), 627 para CK-MB (34%) e 434 para troponina I (23%) (Tabela 1). Dos exames para CK-T realizados nesse período, 56% foram do sexo masculino e, desses, 15% apresentaram resultados alterados. Dos 44% do sexo feminino, apenas 10% apresentaram resultados alterados. A coleta desses dados baseou-se nos valores que se encontravam acima dos valores de referência, citados na revisão bibliográfica. Para os exames de CK-MB, 65% foram do sexo masculino, dos quais, 12% apresentaram resultados alterados. Para o sexo feminino, dos 35%, 10% apresentaram resultados alterados. Do total de exames de troponina I, o sexo masculino compôs 66% e, desses, 7% apresentaram resultados alterados. Do total do sexo feminino (34%), 9% apresentaram resultados alterados. Portanto, do número de exames realizados no período de verão, 205 foram alterados, o que corresponde a 11%.

Tabela 1 - Quantificação dos marcadores cardíacos CK-T, CK-MB e Troponina I nos períodos de verão e inverno

	CK-T		CK - MB		Troponina							
	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno						
	T	Alt.	T	Alt.	T	Alt.						
H	445	68	519	127	441	49	434	57	286	19	351	29
M	343	34	360	62	216	22	287	26	148	13	195	14
T	788	102	879	189	627	71	721	83	434	32	546	43

Legenda: H=homem; M=mulher; T=total; Alt.=Alterados

No período de inverno, foram feitos 879 exames para CK-T (41% do total), 721 para CK-MB (34%) e 546 para troponina I (25%). Dos exames de CK-T realizados nesse período, 59% foram do sexo masculino e, desses, 24% apresentaram resultados alterados. Dos 41% do sexo feminino, 17% apresentaram resultados alterados. Dos exames para CK-MB realizados, 60% foram do sexo masculino e, desses, 13% apresentaram resultados alterados. Do número total do sexo feminino (40%), 9% apresentaram resultados alterados. Dos exames para troponina I, 64% foram do sexo masculino e, desses, 8% apresentaram resultados alterados. Dos 36% do sexo feminino, 7% apresentaram resultados alterados. Sendo assim, do total de exames realizados no período de inverno, 315 foram alterados, correspondendo a 15%.

Em contraste com a maior incidência do IAM entre homens, a mortalidade hospitalar do IAM tem se mostrado maior entre as mulheres. De acordo com Passos,⁽¹⁶⁾ o número de mortes por IAM vem crescendo desde o final dos anos 70, particularmente entre as mulheres. Em um estudo feito no período de 1981-1994, o número de mortes

por IAM entre os homens aumentou em 26,2%, enquanto que, para as mulheres, o aumento foi de 46,4%.

As razões para esse aumento nas taxas de mortalidade, ainda não estão devidamente esclarecidas. Alguns estudos sugerem que a maior longevidade, a gravidade da insuficiência ventricular esquerda (IVE) e fatores relacionados com a terapêutica, podem, em conjunto, contribuir para a maior mortalidade do IAM entre as mulheres. Porém, a demora na procura por auxílio parece ser um fator importante.⁽¹⁶⁾

Em relação ao período avaliado, pode-se observar com nitidez o aumento significativo no total de exames e na taxa de exames alterados no período de inverno. Enquanto que no período de verão foram 1.849 exames, no inverno atingiu 2.146, apresentando um aumento de 16%. Uma incidência 10% a 18% maior de IAM e acidente vascular cerebral (AVC) durante o inverno tem sido observada no Brasil.⁽¹⁷⁾ Desse modo, o aumento nas taxas de incidência constatado no presente estudo, no período de inverno, está de acordo com o descrito na literatura. É importante mencionar que alterações no perfil metabólico podem ocorrer durante os dias mais frios. A elevação dos níveis de colesterol, causada pelo consumo de alimentos mais gordurosos, é um dos fatores. O aumento do colesterol contribui para a formação de placas lipídicas que podem comprometer o fluxo sanguíneo nas artérias do coração.⁽¹⁷⁾

O risco de IAM aumenta para pessoas que têm histórico de doenças cardíacas, obesidade, hipertensão arterial e diabetes. A principal recomendação é evitar esses fatores de risco. Isso envolve reduzir os níveis de colesterol, controlar a pressão arterial e o *Diabetes Mellitus*, adotar a prática regular de atividades físicas, abandono do fumo e evitar condições de estresse sempre que possível.⁽¹⁷⁾

Em relação à porcentagem dos exames, o CK-T foi o exame mais prescrito, provavelmente devido à sua abrangência no diagnóstico, sendo solicitado diante da suspeita de um episódio de IAM. A dosagem de CK-T tem baixa especificidade para avaliar danos no miocárdico, mas valores duas vezes maiores do que o limite máximo de referência podem ser utilizados como coadjuvantes no diagnóstico.⁽¹⁸⁾

Diante de alterações nos exames laboratoriais de creatinoquinase, acrescentam-se ao pedido os exames de CK-MB e de troponina I. Além de exemplificar a porcentagem dos exames realizados, essa sequência está diretamente relacionada à especificidade dos testes. A CK-MB está presente, principalmente, no miocárdio, mas também no músculo esquelético (1% a 2%) e no cérebro. O aumento de CK-MB em situações em que não há IAM ocorre em contusão cardíaca, procedimentos cirúrgicos cardíacos, cardioversão, angioplastia coronariana transluminal, pericardite, miocardite, taquicardia supraventricular

prolongada, cardiomiopatia, insuficiência cardíaca congestiva e angiografia coronariana, entre outros.⁽¹⁹⁾

Ao contrário da CK-MB, a troponina I é altamente específica para o tecido miocárdico, não sendo detectável em pessoas saudáveis. Em decorrência de um IAM, a troponina I aumenta acima dos valores limites e pode permanecer elevada por três a dez dias após o episódio agudo.⁽¹⁸⁾ Outra vantagem na dosagem de troponina é que essa substância atinge valores até quarenta vezes o limite de detecção, enquanto que a de CK-MB se eleva cerca de seis a nove vezes. De acordo com Godoy,⁽¹⁸⁾ a troponina I apresenta alta sensibilidade (> 93%), aumentando seus níveis entre 6 a 24 horas após o início dos sintomas, permanecendo assim por mais tempo, o que facilita o diagnóstico. Na Tabela 2, seguem as características dos marcadores citados, incluindo o tempo de alteração inicial, tempo de pico e o tempo de retorno ao normal.

Tabela 2 - Características da dinâmica de elevação dos marcadores cardíacos CK-T, CK-MB e cTnI

Marcador	Tempo de alteração inicial	Tempo de pico de elevação	Tempo de retorno ao normal
CK-T	CK-MB	3-8 h	4-8 h
12-24 h	12-24 h	3-4 dias	48-72 h
cTnI	4-6 h	12h	3-10 dias

A CK-MB mostrou-se com maior sensibilidade por até 48 horas, enquanto que a troponina I foi bastante sensível até 72 horas. Entre 72 horas e 150 horas, a troponina I ainda mostrava sensibilidade de 70%, enquanto que, para a CK-MB, a sensibilidade foi de 18%. A dosagem da troponina I, de fato, detecta a lesão cardíaca, contribuindo para efetivo diagnóstico e tratamento dos pacientes. As dosagens devem ser valorizadas juntamente com a história clínica e o ECG nos casos de diagnóstico de IAM.⁽¹⁸⁾

O fator idade não foi analisado, a partir do banco de dados disponível, mas estima-se que população de faixa etária mais avançada seja a mais propensa a complicações, devido a uma reserva fisiológica mais restrita, menor capacidade de enfrentar condições de frio, aumento dos níveis de pressão arterial e transtornos mais frequentes de coagulação sanguínea.⁽¹⁷⁾

Do total de exames realizados, uma porcentagem pequena foi alterada, variando de 10% a 15% em relação aos valores de referência, o que permite inferir que muitos indivíduos, na presença de alguns sintomas de desconforto, buscaram prontamente auxílio médico.

Agradecimentos

Ao Laboratório Médico Dr. Maricondi que disponibilizou os dados para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Jadson Oliveira Silva, orientador e professor, pelo auxílio no processo de desenvolvimento deste trabalho.

Abstract

The acute myocardial infarction (AMI) affects millions of people around the world. For the diagnosis, analysis of clinical symptoms, personal and family historic illnesses and laboratory exams, as the serum values creatine kinase (CKT), subtype (CKMB), and troponin I are made. This study aimed to quantify and identify the total tests and the most used biochemical markers requested for the diagnosis of AMI. Data was evaluated from the statistical described and expressed as frequency distribution. The results indicated a higher frequency of AMI in winter than summer. Relative to genre it was observed a frequency of AMI in men. Markers of tissue injury used for detection of AMI were CKT, CKMB and troponin. In the summer period: 23% of Troponin versus 43% of CKT and 34% of CKMB. In the winter period: 25% of the troponin versus 41% of CKT and 34% of CKMB. From the data obtained, there was a higher incidence of AMI in men, during the winter greater numbers were observed. Regarding markers, CKT and CKMB are the most used.

Keywords

Markers of tissue damage; Heart; Acute myocardial infarction

REFERÊNCIAS

- Nicolau JC, Timerman A, Piegas LS, Marin-Neto JA, Rassi A Jr. Guidelines for Unstable Angina and Non-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction of the Brazilian Society of Cardiology (II Edition, 2007). Arq Bras Cardiol 2007; 89 (4): e89-e131. [Article in Portuguese]. Erratum in Arq Bras Cardiol. 2008 Feb;90(2):159.
- Pinheiro P. Infarto fulminante, causas e sintomas. 2010. Disponível em <http://www.mdsaude.com/2010/08/infarto-fulminante.html> Acesso em 18 jul 2012.
- Banco de Saúde, 2010. Disponível em www.legislacaodesaude.rj.gov.br. Acesso em 06 out 2011.
- Martin JFV, Andrade LG, Loureiro AAC, Godoy MF, Braile DM. Infarto agudo do miocárdio e dissecação aguda de aorta: um importante diagnóstico diferencial. Rev Bras Cir Cardiovascular. 2004;19(4).
- Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD. Documento de consenso de expertos. Tercera definición universal del infarto de miocardio. 2013. Rev Esp Cardiol. 2013; 66(2):132.e1-e15. Disponível em <http://www.revespcardiol.org>. Acesso em 27 mai 2014.
- Togashi G B. Dano Muscular induzido pelo sistema de treinamento de cargas descendentes em exercícios resistido. 2009. 113 F. Dissertação em Mestrado (Área de Concentração: Bioengenharia) - Escola de Engenharia de São Carlos / Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo - São Carlos, 2009.
- Dembogurski JE. Enzimas de diagnóstico. 2006. Disponível em <https://pt.scribd.com/doc/91109610/Esclerose-Multipla-Miastenia-Gravis>. Acesso em 24 fev 2012.
- Elias DE, Souza HL. Novos marcadores bioquímicos da injúria miocárdica. 2012. Acesso em 21 jun 2012.
- Almeida E. Troponinas Cardíacas, 2004. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0066-782X2009000500012&script=sci_arttext. Acesso em 07 jul 2011.
- Medcorp. Troponinas Cardíacas (cTnI e cTnT). 2012. Disponível em www.medcorp.com.br/medcorp/upload/.../marcadores_Troponinas.html Acesso em 21 jun 2011.
- Bioclin. Troponina I teste rápido, 2010. Disponível em www.bioclin.com.br/tipo-de-produtos/reagentes/testes-rapidos. Acesso em 07 jul 2011.
- Piegas LS, Feitosa G, Mattos LA, Nicolau JC, Rossi Neto JM, Timerman A, et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Tratamento do Infarto agudo do Miocárdio com Supradesnível do Segmento ST. Arq Bras Cardiol. 2009;93(6 supl.2):e179-e264.
- Brpress. Infarto - Mulheres já sofrem mais que homens. 2011. Disponível em http://www.brpress.net/index.php?option=com_content&view=article&id=5998:infarto-mulheres-ja-sofrem-mais-que-homens&catid=74:saude&Itemid=117 Acesso em 17 ago 2011.
- Sanches IC, Jorge L, Ponciano KR, Pureza DY, Angelis K. Doença Cardiovascular na Mulher. Integração. 2006;44:41-8. Disponível em scholar.google.com.br/citations?user=reeWbqkAAAAJ&hl=pt-BR. Acesso em 18 jul 2012.
- Santos VEFA, Alves ERP, Sousa PJ, Souza MAO, Costa AM, França ISX, Oliveira RC. Myocardial infarction in women: an integrative review. 2011. Journal of Nursing UFPE on line. Vol 5, No 3. Disponível em <http://www.revista.ufpe.br/revistaenfermagem/index.php/revista>. Acesso em 27 mai 2014.
- Passos LCS, Lopes AA, Barbosa AA, Jesus RS. Por que a Letalidade Hospitalar do Infarto Agudo do Miocárdio é Maior nas Mulheres? Arq Bras Cardiol, volume 70 (nº 5). São Paulo, 1998. Disponível em <http://www.scielo.br/pdf/abc/v70n5/3329.pdf> Acesso em 29 fev 2012.
- Mastrocolla LE, Bagnatori RS, Lima MOL. AVC e infarto são mais comuns nos dias frios. 2009. Disponível em <http://www.fleury.com.br/Clientes/SaudeDia/Artigos/Pages/AVC-infarto-comuns-dias-frios.aspx> Acesso em 05 mar 2012.
- Godoy MF de; Braile DM; Purini Neto J. A troponina como marcador de injúria celular miocárdica. Arq. Bras. Cardiol., São Paulo, v. 71, n. 4, Oct. 1998. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066782X1998001000013&lng=en&nrm=iso Acesso em 13 Mar 2012.
- Resende LMH, Viana LG, Vidigal PG. Protocolos Clínicos dos Exames Laboratoriais. Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais Universidade Federal de Minas Gerais 2009. Disponível em http://www.uberaba.mg.gov.br/portal/acervo/saude/arquivos/oficina_10/protocolos_exames_laboratoriais.pdf Acesso em 13 mar 2012.

Correspondência
Karina da Rocha

Rodovia SP-308 - até km 170 (Rodovia do Açúcar km 156)
13.423-170 – Piracicaba, SP

Micoses superficiais em pacientes com *Diabetes Mellitus* atendidos em um ambulatório geral em Blumenau, SC

Superficial mycoses in patient with Diabetes Mellitus served in a general outpatient clinic in Blumenau, SC

Rafael Jonas Dahlke¹

Tatiani Karini Rensi Botelho²

Ana Paula Loch¹

Caio Maurício Mendes de Cordova³

Resumo

Objetivo: O *Diabetes Mellitus* (DM) caracteriza-se por uma síndrome clínica de evolução crônica e degenerativa, decorrente de distúrbio na secreção e/ou ação da insulina no organismo, que determina um conjunto de alterações metabólicas, caracterizadas, principalmente, pela hiperglicemia. Os indivíduos portadores de DM são, em geral, indivíduos vulneráveis a uma série de complicações de natureza infecciosa, como os processos bacterianos, fúngicos e virais. As micoses mais frequentemente encontradas são causadas por fungos dermatófitos e leveduras do gênero *Candida*. O objetivo deste estudo foi analisar a frequência de infecção fúngica em portadores de DM atendidos em um ambulatório geral, em Blumenau, SC. **Métodos:** O diagnóstico laboratorial foi feito através de métodos tradicionais, incluindo exame micológico direto e cultura. **Resultados:** Constatou-se que, dentre os indivíduos avaliados, 36% apresentaram resultado positivo, sendo que, desses, 86% apresentaram lesão por *Candida* spp. e 14% por dermatófitos, o qual foi identificado como *Trichophyton mentagrophytes* na cultura. **Conclusão:** A maior frequência de *Candida* spp. pode estar relacionada à imunossupressão ocasionada pelo *Diabetes Mellitus*. Com este estudo, pode-se demonstrar a importância do diagnóstico laboratorial precoce das infecções fúngicas em indivíduos com *Diabetes Mellitus*.

Palavras-chave

Micoses; Diagnóstico laboratorial; *Diabetes Mellitus*

INTRODUÇÃO

De acordo com dados da Sociedade Brasileira de Diabetes,⁽¹⁾ o *Diabetes Mellitus* (DM) vem aumentando significativamente a cada ano. Em 1985, estimava-se haver 30 milhões de adultos diabéticos no mundo. Esse número avançou para 135 milhões, em 1995, atingindo 173 milhões, em 2002, com projeção de chegar a 300 milhões, em 2030. Fatores como o envelhecimento populacional, obesidade e sedentarismo têm influenciado também nesse crescimento.

O DM é um grupo de distúrbios metabólicos de etiologia variada, no qual os pacientes apresentam hiperglicemia consequente à incapacidade celular de metabolizar adequadamente a glicose. Os portadores de DM são, em geral, os indivíduos que apresentam uma série de alterações de origem metabólica e/ou de origem infec-

çiosa, como os processos bacterianos, fúngicos e virais. Além das complicações da própria doença, o paciente com DM também pode apresentar alterações vasculares e neurológicas, que agravam as condições clínicas.⁽²⁾

O diabetes é uma enfermidade crônica e de importantes repercussões na vida dos indivíduos. Dentre as suas complicações, uma das mais características são as infecções que podem resultar em condições ainda mais debilitantes, trazendo prejuízo às atividades cotidianas e à qualidade de vida dos pacientes.⁽³⁾

O ser humano está constantemente exposto aos fungos, e a maioria dos indivíduos tolera essa exposição sem sofrer consequências mais graves. Duas razões existem para isso: em primeiro lugar, os indivíduos saudáveis e imunologicamente competentes apresentam alto grau de resistência natural à colonização fúngica e, em segundo lugar, a maior parte dos fungos apresenta baixa patoge-

¹Farmacêutico. Universidade Regional de Blumenau, SC.

²Msc. Docente da Universidade Regional de Blumenau, SC.

³Doutor. Docente da Universidade Regional de Blumenau, SC.

Instituição: Universidade Regional de Blumenau, Departamento de Farmácia, Laboratório de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Micologia Clínica – Blumenau, SC.

Artigo recebido em 28/05/2014

Artigo aprovado em 19/10/2015

nicidade. Entretanto, sob condições consumptivas, muitos indivíduos tornam-se suscetíveis aos fungos.⁽⁴⁾

Os pacientes com diabetes apresentam muitas vezes manifestações cutâneas aliadas à doença, sendo frequente a colonização dos tecidos queratinizados por fungos, incluindo os processos causados por dermatófitos e leveduras do gênero *Candida*, o que pode constituir uma porta de entrada para infecções mais graves ou dar origem ao aparecimento de dermatomicoses, especialmente onícomicoses de difícil tratamento, sobretudo nos membros inferiores.^(2,5)

Os fungos dermatófitos são conhecidos pela colonização da pele queratinizada.⁽⁶⁾ A penetração dos esporos fúngicos na epiderme pode ser dificultada pela integridade da barreira cutâneo-mucosa e da resposta imunológica, ambas comprometidas no tegumento do diabético.⁽⁷⁾

A candidíase é uma infecção fúngica frequente e oportunista. Durante muito tempo, *Candida albicans* foi a espécie. Correntemente, no entanto, sabe-se que outras espécies, como *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*, em condições especiais do hospedeiro, podem produzir também diferentes tipos clínicos.⁽²⁾

Uma outra questão são as interações medicamentosas entre drogas utilizadas no tratamento fúngico e drogas utilizadas no tratamento do diabetes, pois a meia-vida plasmática das sulfonilureias, empregadas para promover a liberação de insulina a partir das células beta do pâncreas, tem se mostrado aumentada, levando a episódios de hipoglicemia agudos, quando é usado, concomitantemente, com fluconazol. O itraconazol e a terbinafina têm sido, na maioria das vezes, em decorrência desse problema, os medicamentos antifúngicos de escolha.⁽⁵⁾

Atualmente, no mundo, verifica-se um aumento significativo das micoses oportunistas em pacientes críticos.⁽⁷⁾ O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento das micoses que acometem pacientes críticos portadores de DM, os quais fazem parte do Grupo de Diabetes do Ambulatório Geral da Fortaleza, uma microrregião de Blumenau, SC.

MATERIAL E MÉTODOS

No presente estudo, verificou-se a prevalência de micoses superficiais em pacientes com *Diabetes Mellitus* do Ambulatório Geral do Bairro da Fortaleza, situado na cidade de Blumenau, SC.

O Projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (Parecer nº 108/2011) da Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB). A população utilizada no estudo em questão não teve qualquer restrição quanto ao sexo, mas foram excluídos

pacientes menores de 18 anos. A coleta de amostra foi efetuada através de raspados de pele, unha e pelo.

Para a coleta de lesão de pele, o local foi submetido à higienização com álcool isopropílico a 70%, para minimizar contaminações secundárias. Em seguida, com auxílio de uma cureta dermatológica ou lâmina de bisturi foram raspadas as bordas das lesões cutâneas ativas, escolhendo-se sempre as lesões mais recentes.

Na coleta de pelos e couro cabeludo foram retirados os pelos que apresentavam maior probabilidade de estarem infectados, sendo as amostras mais representativas aquelas localizadas nas regiões de alopecia, onde as mesmas foram removidas do folículo piloso por arranchamento, com auxílio de uma pinça esterilizada. Na coleta de material das unhas, procurou-se coletar material da região de progressão e confluência do tecido são com o tecido lesado, empregando-se tesouras de várias dimensões, limas, alicates de unhas e diversas curetas dermatológicas.⁽⁸⁾

O material foi acondicionado em placas de Petri estéreis e encaminhado ao Laboratório de Micologia Clínica da FURB, onde foram realizados o exame micológico direto e o cultivo em meio sólido. No exame micológico direto, pequena parte da amostra clínica foi colocada em lâmina, sendo adicionado hidróxido de potássio (KOH) a 30% para clarificação do material, cobrindo-se, em seguida, com uma lamínula, para verificação microscópica da presença de hifas, pseudo-hifas, leveduras, blastósporos ou artrósporos.⁽⁸⁾

Para a cultura, as amostras foram semeadas em agar de Sabouraud dextrosado (Difco, Inglaterra) com e sem inibidores, deixando-as em temperatura de 26°C, em estufa, durante duas a três semanas. Para identificação das espécies, foram examinadas as características coloniais, como textura, tempo de crescimento, topografia e coloração do reverso, e micromorfológicas, notadamente as estruturas de reprodução.⁽⁸⁾

Os isolados de *Candida* spp. foram identificados através de meio cromogênico HiCrome-Candida (Himedia Laboratories, Índia). O HiCrome-Candida é um meio seletivo e diferencial que facilita o isolamento de leveduras de culturas mistas e permite a diferenciação de espécies de *Candida*, como *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* e *Candida glabrata*.⁽⁷⁾ Com o auxílio de uma alça, foram retirados fragmentos das colônias cultivadas em agar de Sabouraud dextrose para subcultivo no meio cromogênico. Após a inoculação das leveduras nesse meio, as placas foram incubadas em estufa a 35-37°C. Depois de 48 horas, verificou-se o crescimento de colônias de diferentes colorações e morfologias. Conforme o fabricante, a espécie *C. albicans* produz colônias lisas e de cor verde, *C. tropicalis* produz colônias lisas azul metálico a roxo, as colônias de *C. krusei* aparecem rosas

e com textura seca, e as colônias de *C. glabrata* produzem colônias lisas de coloração violeta. Colônias de *Candida parapsilosis* podem ser, presuntivamente, identificadas pela coloração esbranquiçada a rósea.⁽⁷⁾

RESULTADOS

Foram coletados amostras de cinquenta pacientes com DM. Houve prevalência de micoses na faixa etária com mais de 60 anos de idade (10/55,6%) e em pacientes do sexo feminino (94,4%), sendo a maioria do lar e todos portadores do DM tipo II (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição dos indivíduos com *Diabetes Mellitus*, por sexo, idade, tipo de diabetes, tipo de medicação e profissão/ocupação, atendidos em um Ambulatório Geral em Blumenau/SC

Pacientes	Total de pacientes	Pessoas com infecção fúngica
Gênero		
Masculino	13 (26%)	1 (5,6%)
Feminino	37 (74%)	17 (94,4%)
Total	50 (100%)	18 (100%)
Idade - faixa etária		
Adultos jovens (entre 18 e 29 anos)	1 (1%)	0 (0%)
Adultos (entre 30 e 59 anos)	24 (49%)	8 (44,4%)
Idosos (acima de 60 anos)	25 (50%)	10 (55,6%)
Total	50 (100%)	18 (100%)
Tipo da medicação		
Insulina-dependentes	18 (36%)	6 (33,3%)
Hipoglicemiantes orais	32 (64%)	12 (66,7%)
Total	50 (100%)	18 (100%)
Tipo de diabetes		
<i>Diabetes Mellitus</i> - tipo I	1 (2%)	0 (0%)
<i>Diabetes Mellitus</i> - tipo II	49 (98%)	18 (100%)
Total	100%	100%
Profissão/Ocupação		
Do lar	13 (26%)	5 (27,7%)
Auxiliar de serviços gerais	5 (10%)	3 (16,7%)
Aposentado(a)	23 (46%)	5 (27,7%)
Costureira	3 (6%)	3 (16,7%)
Motorista	2 (4%)	1 (5,7%)
Comerciante	3 (6%)	1 (5,6%)
Pedreiro	1 (2%)	0 (0%)
Total	50 (100%)	100%

Destes pacientes, 23 (46%) apresentaram positividade para infecção fúngica no exame micológico direto. No que se refere à cultura das amostras, constatou-se que 32 (64%) foram negativas e 18 (36%), positivas. Dentre as amostras positivas, duas (4%) o foram para *Trichophyton mentagrophytes* e 16 (32%) para *Candida* spp., das quais três (6%) eram *C. albicans* e 13 (26%) eram *Candida não albicans*.

Dos sítios anatômicos das amostras positivas, foram obtidos 39% de unhas do pododáctilo, 33% de unhas do quirodáctilo, 28% de pele e nenhuma amostra de couro cabeludo.

DISCUSSÃO

A ocorrência de micoses em pacientes portadores de DM foi de 46% quando observado apenas o exame micológico direto. A cultura em agar de Sabouraud mostrou resultados diferentes, pois foram obtidos 36% de positividade. Diferenças entre exame direto e cultura podem ser verificadas, em regra, quando os elementos fúngicos perdem a viabilidade. Apenas a cultura pode mostrar se estão presentes formas viáveis ou não viáveis do fungo. Essa perda de viabilidade pode ocorrer por demora excessiva entre a colheita e a cultura ou devido à terapêutica prévia.⁽⁹⁾

Alguns estudos têm sugerido que é previsível a obtenção de uma prevalência mais elevada de dermatomicoses em pacientes diabéticos comparando-se com aqueles não diabéticos. O risco de aparecimento de onicomicoses em doentes diabéticos é aproximadamente três vezes maior do que nos indivíduos que não apresentam essa condição.^(10,11) Outros autores reforçam o conceito, atualmente aceito, de que o paciente diabético multiplica o risco relativo de desenvolver uma onicomicose de 1,5 a 2,8 vezes.⁽¹²⁾

Com relação à faixa etária, a maior parte dos pacientes era de pessoas acima de 60 anos (55,6%). Em geral, a prevalência de onicomicose aumenta com a idade. Um estudo realizado por Da Silva et al.⁽³⁾ mostrou que, com o envelhecimento, há aumento do risco de desenvolvimento de micoses em pacientes com DM tipo 2.

Neste estudo, o gênero feminino representou 94,4% dos pacientes com infecção fúngica. Esse gênero é mais acometido por micoses superficiais, principalmente onicomicoses, sendo as unhas dos pés as mais afetadas, o que pode ser resultado de maior trauma, tanto oriundos dos cuidados estéticos quanto pelo uso de calçados tipicamente femininos, o que facilita a produção de injúrias e a implantação do fungo.^(13,14) Além dos fatores citados, as unhas dos pés são zonas do corpo sujeitas a elevada umidade, maceração e calor, o que pode também favorecer a colonização desses organismos.⁽¹⁵⁾ González et al.⁽¹⁶⁾ relataram, igualmente, maior incidência de onicomicoses em DM (184/31,84%) e em pacientes do sexo feminino (123/67%).

Conforme a Tabela 2, o principal agente encontrado em pacientes portadores de *Diabetes Mellitus*, neste estudo, foi *Candida* spp., responsável por 32% das infecções. O DM tem sido considerado um fator predisponente para candidíase, pois, nesse processo, ocorre uma diminuição da capacidade defensiva dos polimorfonucleares (PMN) e dos linfócitos T em decorrência da hiperglicemia, gerando um meio favorável para a reprodução de espécies

Tabela 2 - Identificação e frequência das infecções por micoses superficiais em um grupo de indivíduos com *Diabetes Mellitus* atendidos em um ambulatório geral em Blumenau/SC

Identificação fúngica	Frequência (n°)	Taxa (%)
<i>Candida albicans</i>	3	6
<i>Candida sp</i>	13	26
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	2	4
Negativo	32	64
Total	50	100

de *Candida*.⁽¹⁷⁾ Gupta et al.⁽¹⁸⁾ consideram *Candida spp.* como a segunda maior causa de onicomicoses, após os casos de dermatofitos, podendo ter uma variação de frequência de 2,8% a 44%.

Lek & Skorepova⁽¹⁹⁾ afirmaram que a DM associada à onicomicose aumenta o risco de ulceração e gangrena podal comparativamente ao diabetes sem a presença de infecção fúngica. Associada ao aumento do risco de outras doenças do pé, como infecção bacteriana secundária e celulite, devido à infecção em volta da pele, a DM pode levar à amputação de membros.

CONCLUSÃO

Diante deste estudo, enfatiza-se a necessidade do diagnóstico precoce para o pronto tratamento fúngico, visto que a doença fúngica pode ser um complicador do quadro clínico do DM.

Abstract

Objective: Diabetes Mellitus (DM) is characterized by a clinical syndrome of chronic and degenerative disorder given by the secretion and/ or action of insulin in the body which determines a set of metabolic changes, mainly characterized by hyperglycemia. People with DM are generally most vulnerable to infection complications, as viral, bacterial and fungal infections. The most common fungal infection found are caused by dermatophytes and *Candida* species. The objective of this study was to analyze the frequency of fungal infection in people with DM served in a general outpatient clinic in Blumenau/SC. **Methods:** Laboratory diagnosis was made using traditional methods, including direct mycological examination and culture. **Results:** It was found that the people evaluated, 36% were positive, and of these 86% had lesions caused by *Candida spp.* and 14% for dermatophyte, *Trichophyton mentagrophytes* was identified in culture. **Conclusion:** The high frequency *Candida spp.* may be related to immunosuppression caused by Diabetes Mellitus. We can with this study demonstrate the importance of early laboratory diagnosis of fungal infections in persons with Diabetes Mellitus.

Keywords

Mycoses; Laboratorial diagnosis; Diabetes Mellitus

REFERÊNCIAS

- Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2009/Sociedade Brasileira de Diabetes. Epidemiologia do diabetes mellitus. 3a. ed. Itapevi, SP, 2009, p. 9.

- Minelli L, Nonino AB, Salmazo JC, Neme L, Marcondes M. Diabetes mellitus e afecções cutâneas. An Bras Dermatol, Rio de Janeiro. 2003 nov/dez;78(6):735-47.
- Da Silva MCA, Mazzotti NG, Weber MB. Manifestações cutâneas em pacientes com diabetes melito tipo 2 em posto de saúde. Rev. da AMRIGS, Porto Alegre. 2007 abr./jun;51(2):95-9.
- Murray PR, Granner DK, Mayes PA. Microbiologia médica. 4a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2004, 762 p.
- Schlottfeldt FS, Tramontin SW, Nappi BP, Santos JI. Reclassificação taxonômica de espécie do gênero *Malassezia*: revisão de literatura sobre as implicações clínico laboratorial. J bras patol med lab. 2002 jul-set;38(3):199-204.
- Foss NT, Polon DP, Takada MH, Foss-Freitas MC, Foss MC. Dermatoses em pacientes diabéticos. Rev Saúde Pública. 2005;39(4):677-82.
- Martins CAP, Santos SSF, Loberto JCS. Presença *Candida sp* em pacientes com periodontite crônica. Ciência Odontológica Brasileira. 2002 set/dez;5(3).
- Rousselle P, Freydiere AM, Couillerot PJ, de Montclos H, Gille Y. Rapid identification of *Candida albicans* by using *Albicans ID* and Fluoroplate agar plates. J Clin Microbiol. 1994 Dec;32(12):3034-6.
- Esteves JA, Cabrita JD, Nobre GN. Micologia médica. 2a ed. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 1990, 1058 p.
- Dias EP, Soares MMS, Resende LMH. Diabetes mellitus: diagnóstico e classificação. Rio de Janeiro: MEDSI, Editora Médica e Científica Ltda., 2001.
- Gupta AK, Konnikov N, MacDonald P, Rich P, Rodger NW, Edmonds MW, et al. Prevalence and epidemiology of toenail onychomycosis in diabetic subjects: A multicentre survey. Br J Dermatol. 1998 Oct;139(4):665-71.
- Parada HLFRS. Prevalência de dermatomicoses nos membros inferiores em doentes diabéticos. Avaliação de possíveis fatores predisponentes para infecção. Universidade de Lisboa: Faculdade de Ciências do Departamento de Biologia Animal. Mestrado em Biologia Humana e Ambiente, 2007.
- Oliveira JAA, Barros JA, Cortez ACA, Oliveira JSRL. Micose superficiais na cidade de Manaus, AM. An Bras Dermatol., Rio de Janeiro. 2006 mar/nov;81(3).
- Araújo AJG, Bastos OMP. Onicomicoses por fungos emergentes: análise clínica, diagnóstico laboratorial e revisão. An Bras Dermatol. Rio de Janeiro, 2003 jul/ago;78(4):445-55.
- Araújo AJG, Bastos OMP, Souza MAJ, Oliveira JC. Ocorrência de onicomicose em pacientes atendidos em consultórios dermatológicos da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. An Bras Dermatol. 2003;78(3):299-308.
- González JA, Bonifaz A, Ponce RM. Onicomicosis por *Candida* associada con diabetes mellitus. México: Dermatologia Rev Mex. 2007 jul/ago;51(4).
- Vartitarian S, Smith CB. Pathogenesis: host resistance and predisposing factors. In: Bodey GP. Candidiasis. Pathogenesis, diagnosis and treatment. 2a. ed.
- Gupta AK, Jain HC, Lynde CW, Watteel GN, Summerbell RC. Prevalence and epidemiology of unsuspected onychomycosis in patients visiting dermatologists' offices in Ontario, Canada: a multicenter survey of 2001 patients. Int J Dermatol. 1997 Oct;36(10):783-7.
- Skorepová M. Mycoses and diabetes. Vnitr Lek. 2006 May;52(5):470-3. [Article in Czech].

Correspondência

Rafael Jonas Dahlke

Rua São Paulo, 2171 – Bairro Itoupava Seca
Blumenau - SC

Influência da massa muscular e da atividade física nos níveis plasmáticos de creatinina

Influence of muscle mass and physical activity on creatinine plasma levels

Luci Maria Sant'Ana Dusse¹
Vanessa Heloísa de Faria²
Leiliane André Coelho¹
Danyelle Romana Alves Rios³
Ieda de Fátima Oliveira Silva¹

Resumo

Objetivo: Avaliar a creatinina e ureia plasmáticas de indivíduos saudáveis, sem suspeita clínica de disfunção renal, com massa muscular proeminente e que exerciam atividade física extenuante. **Métodos:** Foram selecionados 49 trabalhadores rurais, cuja coleta de sangue foi realizada à noite (GI/ n=27) ou pela manhã (GII/ n=22). **Resultados:** No GI, 96,2% dos indivíduos apresentaram níveis elevados de creatinina e, no GII, foram 50%. **Conclusão:** Considerando que os indivíduos não apresentavam evidências de disfunção renal, mostrando-se clinicamente saudáveis, e que tinham uma atividade laboral pesada de 6-8 horas diárias, é possível inferir, preliminarmente, que, no GI, o somatório da massa muscular e do esforço físico teriam contribuído para esse resultado e, no GII, apenas a massa muscular justificaria o aumento da creatinina. Este estudo demonstrou a possível interferência da atividade física na creatinina plasmática, sinalizando para a necessidade de maior divulgação e controle das orientações aos clientes pelos laboratórios, bem como a conferência da adesão dos indivíduos às mesmas, antes da coleta de sangue, para minimizar a variabilidade pré-analítica nesse exame laboratorial.

Palavras-chave

Creatinina plasmática; Ureia; Massa muscular; Atividade física

INTRODUÇÃO

A creatinina é um metabólito da creatina, sendo um produto resultante da renovação muscular. A creatina é precursora da creatina fosfato, molécula existente no músculo que constitui a reserva de fosfato para síntese de adenosina trifosfato (ATP), não apresentando grandes variações diárias em um mesmo indivíduo. Uma vez formada, não é reutilizada no metabolismo corporal, constituindo, exclusivamente, um produto de degradação, produção e liberação de creatinina pelos músculos.⁽¹⁾

A determinação plasmática de creatinina, juntamente à de ureia, constituem os testes rotineiros para avaliação da função renal na prática clínica. No entanto, a taxa de produção da creatinina também está relacionada à massa muscular e à atividade muscular do indivíduo, bem como à ingestão da creatina oriunda da carne.⁽²⁾

Um levantamento nos *websites* dos principais laboratórios do país revelou que nenhuma instrução relativa ao exame "creatinina sérica" era fornecida aos clientes. Essa

constatação motivou a realização deste estudo, que teve por objetivo avaliar os níveis plasmáticos de creatinina e ureia de indivíduos saudáveis, sem suspeita clínica de disfunção renal, com massa muscular proeminente e que exerciam atividade física extenuante, visando avaliar preliminarmente a real influência da massa muscular e da atividade física na concentração plasmática de creatinina.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (parecer nº 0573.0.203.000-11). Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e responderam a um questionário para coleta de dados epidemiológicos e clínicos.

De acordo com os critérios de inclusão estabelecidos, 49 trabalhadores rurais integrantes da "Associação dos Produtores Rurais da Agricultura Familiar de

¹PhD. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

²MSc. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

³PhD. Campus Centro Oeste – Universidade Federal de São João del Rei, MG

Instituição: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.
Suporte financeiro: Fapemig

Artigo recebido em 13/05/2014
Artigo aprovado em 16/11/2015

Divinópolis" (APRAFAD) foram selecionados. Desse modo, avaliaram-se trabalhadores rurais aparentemente saudáveis que consumiam carne regularmente, sem queixas clínicas, do sexo masculino, de qualquer etnia, que exerciam atividade física na lavoura, por cerca de seis a oito horas diárias, com média de idade de 42 anos (faixa etária de 20 e 69 anos) e escolaridade variando de 3 a 11 anos. Os trabalhadores com suspeita de doença renal ou outra doença foram excluídos do estudo. Foram também excluídos aqueles que faziam uso de medicamentos que alterassem os níveis de creatinina ou ureia, como corticoides e cimetidina.

Amostras de sangue de 27 trabalhadores foram coletadas à noite, após o dia de trabalho (Grupo I), e de 22 trabalhadores, antes do início do trabalho, pela manhã (Grupo II). Os integrantes do grupo I estavam em jejum de pelo menos cinco horas. Foram coletados de cada participante 5 mL de sangue sem anticoagulante diretamente em tubos do sistema Vacutainer® (Becton Dickinson), os quais foram imediatamente centrifugados para separação do soro, que foi mantido a 4°C até a realização dos testes laboratoriais. A determinação da creatinina foi realizada utilizando-se

metodologia colorimétrica de ponto final (Método de Jaffé), cuja faixa de referência é de 0,9 mg a 1,2 mg/dL. A dosagem de ureia foi feita pelo método enzimático colorimétrico (Berthelot-modificado), cuja faixa de referência é de 15 mg a 45 mg/dL. Para ambas as dosagens foram utilizados os conjuntos de reagentes da Analisa®. Para monitorar o desempenho dos métodos analíticos, foram empregadas amostras-controle em diferentes concentrações (soro controle Controllab®). A relação ureia/creatinina foi calculada e, em condições normais, essa ficou próxima de 30.

RESULTADOS

Dos 27 trabalhadores rurais do Grupo I que tiveram o sangue coletado após a jornada de trabalho, 26 (96,2%) apresentaram valores de creatinina superiores ao limite máximo do intervalo de referência do método (1,2 mg/dL) e, em um caso, não foi possível fazer essa determinação. No Grupo II, dos 22 trabalhadores que coletaram sangue pela manhã, 11 (50%) apresentaram valores de creatinina maiores do que 1,2 mg/dL e, em um caso, não foi possível fazer essa determinação (Figura 1)

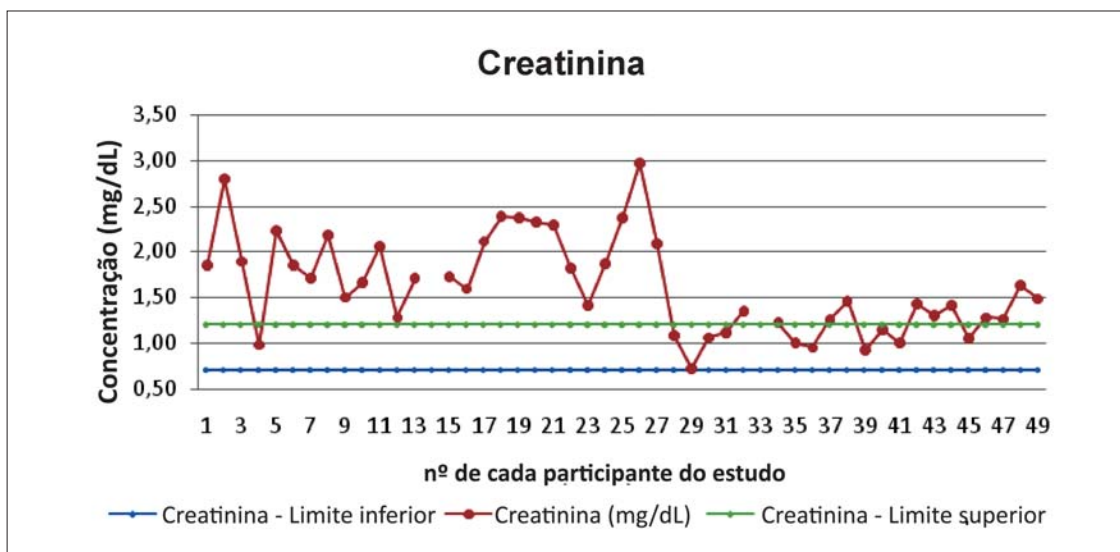


Figura 1. Representação gráfica dos níveis plasmáticos de creatinina em trabalhadores rurais (n= 47). Houve perda de uma determinação em cada grupo.

Os níveis plasmáticos de ureia, nos indivíduos do Grupo I, apresentaram-se superiores a 45 mg/dL em 12 casos (44,4%), contudo, em um indivíduo, a ureia mostrou-se superior a 70 mg/dL, o que motivou a retirada desse da análise que seria posteriormente procedida. Nos 22 indivíduos do Grupo II, o valor mostrou-se aumentado em um caso (4,5%).

Os valores calculados para Média e Desvio-Padrão de creatinina e ureia, com exceção do indivíduo que apresentou ureia superior a 70 mg/dL, e a relação ureia/

creatinina, nos dois grupos, estão apresentados na Tabela 1. Não foi observada alteração da relação ureia/creatinina.

Tabela1 - Parâmetros bioquímicos para a avaliação da função renal em trabalhadores rurais

Parâmetros bioquímicos	Grupos I (n=26) Média ± SD	Grupo II (n=22) Média ± SD
Creatinina (mg/dL)	1,96 ± 0,44 (n=26)	1,20 ± 0,22 (n=21)
Ureia (mg/dL)	43 ± 7 (n=27)	35 ± 6 (n=22)
Razão Ureia/Creatinina	23	29

DISCUSSÃO

A quase totalidade dos trabalhadores que tiveram o sangue coletado à noite (96,2%) apresentou níveis elevados de creatinina. No grupo que teve o sangue coletado pela manhã, após repouso noturno, o percentual de trabalhadores com níveis elevados de creatinina foi de 50%. Considerando que esses indivíduos não apresentavam qualquer evidência clínica de disfunção renal, ao contrário, mostravam-se saudáveis e desempenhavam atividade laboral pesada, por seis a oito horas diárias, é possível inferir que, no grupo I, o somatório da massa muscular e do esforço físico teria contribuído para esse resultado e, no grupo II, a massa muscular justificaria o aumento plasmático de creatinina. Sabe-se que a avaliação mais precisa da função renal exigiria a coleta simultânea de urina de 12 ou 24 horas e amostras de sangue para as determinações de creatinina. No entanto, a coleta de urina, por 12 ou 24 horas, é um processo trabalhoso, difícil e também sujeita a erros, de modo que não tem sido utilizada na investigação de rotina da função renal, uma vez que a depuração de creatinina superestima a taxa de filtração glomerular.⁽³⁾

Os níveis de ureia foram discretamente aumentados em 44,4% dos participantes do presente estudo. Como um dos participantes apresentou um aumento acentuado, esse foi excluído das análises. A ureia é o principal metabólito nitrogenado derivado da degradação de proteínas pelo organismo, sendo 90% excretada pelos rins. É parcialmente absorvida, após o processo de filtração, e sua reabsorção tubular é mais ou menos intensa de acordo com o estado volêmico do indivíduo, ou seja, aumenta quando há depleção do volume extracelular e diminui na vigência de expansão de volume.⁽⁴⁾ A ureia não é produzida constantemente durante o dia e a sua concentração sanguínea pode variar com a ingestão proteica, sangramento gastrointestinal e o uso de alguns medicamentos como, por exemplo, os corticosteroides. A sua produção também pode diminuir na vigência de condições tais como a insuficiência hepática e desnutrição.^(1,4) A razão ureia/creatinina plasmáticas tem sido utilizada como uma relação útil para discriminar azotemia de origem pré-renal da pós-renal.⁽¹⁾ Em condições normais, a média da relação ureia/creatinina é 30 e os valores obtidos foram 23 e 29, para os grupos I e II, respectivamente.

Algumas fórmulas matemáticas para estimar a taxa de filtração glomerular (TGF) foram propostas, como a de Cockcroft-Gault,⁽⁵⁾ a *Modification of Diet in Renal Disease (MDRD)*⁽⁶⁾ e a *The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration Equation (CKD-EPI)*.⁽⁷⁾ Como essas fórmulas consideram o valor de creatinina plasmática, alterações nessa determinação irão acarretar alterações no resultado calculado pelas fórmulas.

Métodos mais sensíveis para avaliação da função renal, como a determinação de cistatina C,⁽⁸⁾ depuração da inulina e quelatos marcados,⁽⁹⁻¹¹⁾ microalbuminúria⁽¹²⁾ e avaliação de dismorfismo eritrocitário⁽¹³⁾ estão disponíveis e podem ser utilizados. A determinação de *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL),⁽¹⁴⁾ enzimas urinárias tubulares,⁽¹⁵⁾ molécula-1 de lesão renal (KIM-1)⁽¹⁶⁾ e IL-18⁽¹⁷⁾ ainda estão, no entanto, sob avaliação. Em geral, todos esses métodos têm custo elevado ou envolvem técnicas mais sofisticadas. Dessa modo, na prática, a avaliação dos níveis plasmáticos de creatinina e ureia, bem como o uso de fórmulas matemáticas, constituem os exames rotineiros para a avaliação da função renal.

Os resultados obtidos, neste estudo, relatam, em nível preliminar, a influência da massa muscular e da atividade física nos níveis plasmáticos de creatinina. Considerando que nenhuma instrução relativa ao exame "creatinina no sangue" é fornecida pelos laboratórios clínicos aos clientes, é possível que um indivíduo pratique atividade física antes de se dirigir ao laboratório para realizar o referido exame e que apresente o resultado alterado (elevado), o que pode resultar em conclusões equivocadas quanto à condição renal do paciente. Cumpre ainda ressaltar que o clínico deve considerar a massa muscular do indivíduo, ao interpretar o resultado de creatinina plasmática, não se atendo apenas aos valores de referência estabelecidos.

CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou, preliminarmente, a possível interferência da atividade física nos níveis plasmáticos de creatinina, sinalizando para a necessidade de uma maior divulgação e controle das orientações aos pacientes pelos laboratórios clínicos, bem como a conferência da adesão desses indivíduos às mesmas, antes da coleta de sangue, para minimizar a variabilidade pré-analítica, nesse exame laboratorial.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro concedido pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq e Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais/FAPEMIG.

Abstract

Objective: To evaluate creatinine and urea plasma levels of healthy individuals, without clinical suspicion of renal dysfunction, with prominent muscle mass and exercising vigorous physical activity.

Methods: 49 farm workers who had blood collected at night (GI/ n=27) or in the morning (GII/ n=22) were selected. **Results:** In GI, 96.2% of subjects had elevated creatinine levels and in GII, 50%.

Conclusion: Since these individuals showed no clinical evidence of renal dysfunction, showed healthy, and performing heavy labor activity for 6-8 hours daily, we can infer that in GI, the muscle mass

and physical effort have contributed to this result and in GII, muscle mass would justify the increase in creatinine levels. In conclusion, this study preliminarily demonstrated the possible influence of physical activity on creatinine plasma levels, signaling the need for greater awareness and control of orientation to clients by clinical laboratories, before the blood collection, in order to minimize pre-analytical variability in this laboratory test.

Keywords

Plasma creatinine; Urea; Muscle mass; Physical activity

REFERÊNCIAS

- Newman DJ, Price CP In: Burtis CA, Ashwood, E R (eds). Tietz textbook of clinical chemistry. 3 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co; 1999.
- Bastos MG, Bastos RMR, Paula RB. Avaliação da função renal. 4. ed. Porto Alegre: Artmed; 2007.
- Goldberg TH, Finkelstein MS. Difficulties in estimating glomerular filtration rate in the elderly. Arch Intern Med. 1987;147:1430-3.
- Burtis CA, Ashwood ER. Clinical Chemistry. 2a. ed. Philadelphia: Saunders; 1999
- Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinina clearance from serum creatinine. Nephron. 1976;16:31-41.
- Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene, T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. Ann Intern Med 1999; 30:461-70.
- Levey AS, Stevens LA, Schmid CH et al. CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. Ann Intern Med. 2009;150(9):604-12.
- Larsson A, Malm J, Grubb A, et al. Calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min from plasma cystatin C values in mg/L. Scand J Clin Lab Invest. 2004;64:25-30.
- Shannon JA, Smith HW. The excretion of inulin, xylose and urea by normal and phlorizinized man. J Clin Invest. 1935;14(4):393-401.
- Frennby B, Sterner G, Almén T, et al. The use of iohexol clearance to determine GFR in patients with severe chronic renal failure - a comparison between different clearance techniques. Clin Nephrol. 1995;43:35-46.
- Perrone RD, Steinman TI, Beck GJ, et al. Utility of radioisotopic filtration markers in chronic renal insufficiency: simultaneous comparison of 125I-iothalamate, 169Yb-DTPA, 99Tc-DTPA and inulin. Am J Kidney Dis. 1990;16:224-35.
- Alves MAR. Diagnóstico de doença renal crônica: avaliação de proteinúria e sedimento urinário. J Bras Nefrol. 2004;26:6-8.
- Nagahama D, et al. A useful new classification of dysmorphic urinary erythrocytes. Clin Exp Nephrol. 2005;9:304-9.
- Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. J Am Soc Nephrol. 2003;14:2534-43.
- Jung K, Pergande M, Schimke E, et al. Urinary enzymes and low-molecular-mass proteins as indicators of diabetic nephropathy. Clin Chem. 1988;34:544-7.
- Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. Kidney Int. 2002;62:237-44.
- Sirota, JC, Walcher A, Faubel S, Jani A, McFann K, Devarajan P, et al. Urine IL-18, NGAL, IL-8 and serum IL-8 are biomarkers of acute kidney injury following liver transplantation. BMC Nephrology. 2013;1:14-7.

Correspondência

Luci Maria Santana Dusse

Av. Antonio Carlos, 6627 Sala 4104 - Bloco 2

Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Minas Gerais

31270-901 – Belo Horizonte – Minas Gerais, Brasil

Prevalência de *Streptococcus agalactiae* em gestantes da Grande Porto Alegre, RS: relato de caso

Prevalence of *Streptococcus agalactiae* in pregnant women of Porto Alegre, RS: case report

Patrícia Renck Nunes¹
Marianne Schrader de Oliveira²

Resumo

O *Streptococcus agalactiae* é um coco Gram-positivo, beta-hemolítico que faz parte da microbiota de membranas mucosas, colonizando, principalmente, o trato intestinal e o genitourinário. A identificação no trato anogenital das gestantes é de importância para a saúde da mulher e do feto, visto que esse microrganismo pode causar infecções neonatais graves, septicemia, pneumonia e meningite neonatal, assim como causar infecção no organismo materno e comprometer a evolução da gestação. Cento e quarenta e quatro gestantes foram submetidas à coleta de secreção vaginal e perianal para cultura em meio Stuart. A amostra da secreção vaginal foi inoculada em agar sangue e a amostra da secreção anal em meio azida, as quais foram incubadas a 37°C, por 24 horas, seguindo-se o teste de CAMP. Foi possível verificar a alta frequência de colonização por *S. agalactiae*, neste estudo (40%), principalmente em pacientes entre a 34ª e a 37ª semanas de gestação (64%), o que ressalta a importância da inclusão da cultura de secreção vaginal e perianal para pesquisa desse microrganismo nos exames pré-natais.

Palavras-chave

Streptococcus agalactiae; Gravidez; Membranas fetais; Mortalidade neonatal

INTRODUÇÃO

O *Streptococcus* é um gênero de bactérias Gram-positivas que faz parte da microbiota da pele, boca, intestino e trato respiratório superior. Essas bactérias são classificadas de acordo com a capacidade de causar a lise de eritrócitos. Aquelas que causam hemólise completa (beta-hemolíticos) ou nenhuma hemólise (gama-hemolíticos) fazem parte do grupo B, que inclui a espécie *Streptococcus agalactiae*. Tal patógeno é o maior responsável por meningites e septicemias em neonatos de mães infectadas, podendo afetar quatro em mil nascidos vivos.⁽¹⁾

A gravidez é um fator de risco conhecido para infecções do trato urinário por diferentes agentes etiológicos como o próprio *S. agalactiae*. A explicação para esse fato pode estar nas alterações mecânicas do trato urinário materno, nas modificações hormonais e na produção e excreção de uma urina mais rica em nutrientes, vitaminas e pH menos ácido, o que favorece o crescimento bacteriano.⁽²⁾

No mundo, entre 10% e 12% das gestantes apresentam infecções do trato urinário durante a gravidez.⁽²⁾ A infecção por *S. agalactiae* é de grande importância para a saúde da mãe e da criança, já que pode levar a complicações perinatais como trabalho de parto pré-termo, cistites e pielonefrites maternas e infecções graves no recém-nascido como septicemia, pneumonia e meningite neonatal.⁽³⁾ No Brasil, contudo, a requisição desse exame não é rotina nos serviços de obstetrícia.⁽¹⁾

O Centers for Disease Control and Prevention (CDC) recomenda que seja realizada a pesquisa dessa bactéria em todas as gestantes entre a 35ª e a 37ª semanas de gestação, pois a evolução da infecção pode comprometer a própria gestação. Caso seja identificada infecção, a administração de antibióticos durante a gestação é arriscada e pode causar efeitos adversos no feto, uma vez que essas drogas atravessam a barreira placentária. A nitrofurantoina, prescrita normalmente no final da gestação, as fluoroquinolonas e as tetraciclina, por exemplo, podem levar à anemia hemolítica e a defeitos na dentição e no

¹Escola Politécnica Federal de Lausanne – Suíça

²Laboratório Endocrineta de Análises Clínicas – Porto Alegre, RS

Instituição: Laboratório Endocrineta de Análises Clínicas
Suporte Financeiro: Laboratório Endocrineta
Conflito de Interesses: Sem conflito de interesse

Artigo recebido em 23/11/2012
Artigo aprovado em 02/10/2015

esqueleto fetal. Portanto, o diagnóstico precoce de infecção por *S. agalactiae* em gestantes é essencial para que o médico assistente possa avaliar o risco/ benefício da intervenção antimicrobiana.⁽⁴⁾

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a prevalência de infecção por *S. agalactiae* em gestantes da Grande Porto Alegre e demonstrar a importância da realização da pesquisa por *Streptococcus* do grupo B (SGB) no pré-natal.

MATERIAL E MÉTODOS

Cento e quarenta e quatro pacientes gestantes ambulatoriais tiveram amostras da região vaginal e perianal coletadas para cultura em meio Stuart. As amostras foram coletadas em dois momentos: no período de dezembro de 2011 a março de 2012 e no período de junho e julho de 2012. A amostra da secreção vaginal foi inoculada em agar sangue (Biocen, Brasil) e a amostra da secreção anal em agar base azida sangue (Kasvi, Brasil). Ambas foram incubadas a 37°C, por 24 horas. Ao se observar beta-hemólise, foi avaliada a presença do antígeno do grupo B de Lancefield, um fator de virulência em *S. agalactiae*, através do teste CAMP. O critério de inclusão na pesquisa foi a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) por parte das gestantes avaliadas.

RESULTADOS

Quarenta por cento das gestantes estudadas exibiram positividade para *S. agalactiae*. Os percentuais de culturas positivas foi de 65% para as amostras vaginais e de 15% para as perianais. Vinte por cento dos cultivos apresentaram cultura positiva para ambas as secreções. A faixa etária das pacientes variou entre 16 e 43 anos, sendo que o isolamento de *S. agalactiae* foi preponderante na faixa de 31 a 35 anos (33%) (Figura 1).

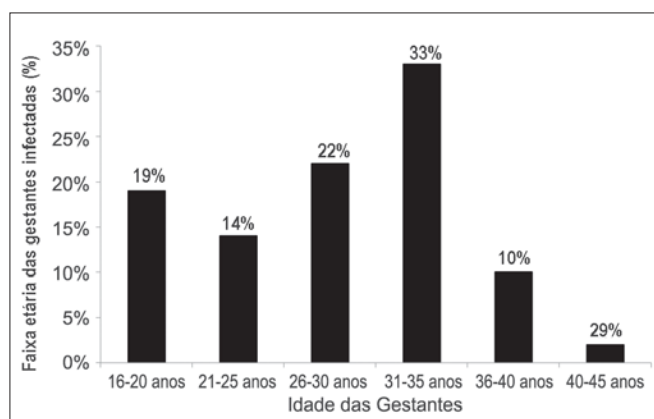


Figura 1. Distribuição das gestantes infectadas por *S. agalactiae* por faixa etária.

As maiores taxas de positividade ocorreram entre a 34ª e 35ª semana de gestação (30%) e entre a 36ª e 37ª semanas (34%) (Figura 2).

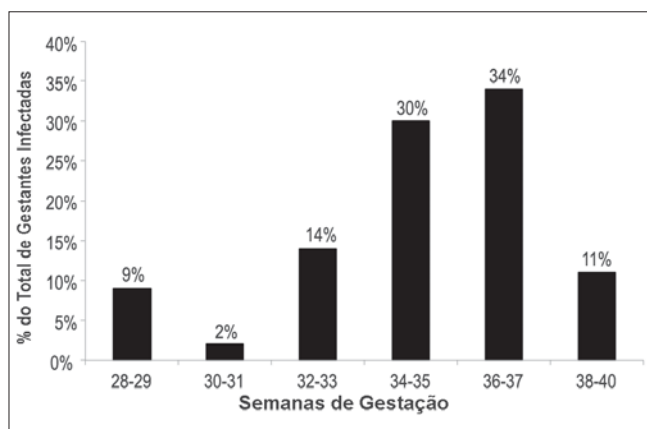


Figura 2. Distribuição das pacientes infectadas por *S. agalactiae* de acordo com a semana de gestação no momento do diagnóstico.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Em gestantes, a prevalência mundial de infecções por *S. agalactiae* chega a 20%. Cerca de 50% delas vão transmitir o patógeno para o feto. No Brasil, a prevalência de gestantes infectadas varia de 14% a 22%, conforme o estado onde o estudo foi realizado.⁽¹⁾ Um estudo realizado em Porto Alegre, em 2009, mostrou uma prevalência de 23,4%.⁽⁵⁾ No presente estudo, 40% das gestantes apresentaram infecção por *S. agalactiae*. Tal diferença, em relação a estudos anteriores, pode estar relacionada ao fato de que as grávidas que receberam a requisição para pesquisa de SGB possuíam suspeita, histórico ou sintomas de infecção, sendo, por isso, uma população clinicamente mais definida. Dessa forma, essas mulheres têm maiores chances de estarem infectadas do que a população geral de gestantes. Mais da metade dos resultados positivos para SBG foram das gestantes com idades entre 26 e 35 anos. Esse resultado reflete a distribuição da faixa etária das mulheres em idade reprodutiva, já que 54% das gestantes que fizeram o exame encontravam-se nessa faixa etária.

Três quartos das gestantes infectadas apresentaram infecção na região vaginal. Devido à colonização normal do trato gastrointestinal pelo *S. agalactiae*, sua presença na região vaginal é frequente e muitas vezes assintomática. Nesses casos, as modificações anatômicas e fisiológicas impostas ao corpo feminino pela gravidez podem predispor ao surgimento de sintomatologia.⁽⁴⁾ É importante ressaltar, todavia, que o fato de haver a possibilidade das infecções serem assintomáticas na mãe não elimina a possibilidade da gestação e/ou do próprio recém-nascido serem comprometidos pelo *S. agalactiae*.

Além de aumentar os riscos de infecção neonatal, a infecção por *S. agalactiae* também é um dos agentes responsáveis pela ruptura prematura das membranas amnióticas e pelo trabalho de parto prematuro. Os SGB possuem a enzima fosfolipase A2 em concentrações muito maiores do que o âmnio e o cório. Essa enzima é responsável pela metabolização de ácido araquidônico e pela síntese de prostaglandinas,⁽⁶⁾ substâncias que desencadeiam o trabalho de parto. Estudos mostram que gestantes que tiveram ruptura prematura das membranas possuem prevalência de SGB quatro vezes maior do que mulheres que tiveram o trabalho de parto a termo.⁽³⁾

Devido à ocorrência de complicações pela administração de antimicrobianos em gestantes, diversos estudos têm avaliado a resistência microbiana e a segurança de antibióticos durante a gestação. A amoxicilina, ampicilina, sulfametoxazol-trimetoprim, cefalotina e cefalexina podem ser administrados durante a gestação, porém apresentam elevado índice de resistência (>40%). As menores taxas de resistência de cepas bacterianas nessa população são observadas em relação aos aminoglicosídeos, cefalosporinas de terceira geração, cefuroxima, quinolonas, fosfomicina e nitrofurantoína.^(7,8)

Alguns desses antibióticos, no entanto, não podem ser empregados no final da gravidez. No presente estudo, 75% das mulheres com cultura positiva para *S. agalactiae* estavam com 34 semanas ou mais de gestação. Como o diagnóstico foi feito tardiamente, as possibilidades terapêuticas para essas gestantes são mais restritas.

Aproximadamente 85% das infecções neonatais por SGB são causadas por transmissão vertical.⁽⁹⁾ Desde 1990, com o início do uso de antibióticos intravenosos, notadamente a penicilina, em gestantes com elevado risco de transmissão vertical, a incidência desse tipo de infecção sofreu um grande declínio. Estima-se que antibióticos profiláticos são capazes de reduzir o risco de infecção neonatal por SGB em até 90%.⁽¹⁰⁾ Nesse contexto, e tendo em vista a alta prevalência de infecção por SGB encontrada nessa população, torna-se essencial a identificação e o correto tratamento da mesma no pré-natal, para que sejam evitadas infecções potencialmente fatais no recém-nascido.

Agradecimentos

Agradecemos ao Laboratório Endocrimeta, que contribuiu para a realização deste estudo.

Abstract

Streptococcus agalactiae is a beta-hemolytic Gram-positive coccus. It is part of the microbiota of mucosae, colonizing primarily the intestinal and genitourinary tracts. The identification of *S. agalactiae* in the anogenital tract of pregnant women is of critical importance to the health of the baby, since this organism can cause severe neonatal infections, septicemia, pneumonia, neonatal meningitis, and to the health of the mother, since it can cause several infections

and compromise the evolution of the pregnancy. One hundred forty four pregnant women had perianal and vaginal secretions collected and cultured in Stuart's medium. The sample of vaginal secretion was inoculated in blood agar and the anal sample in azide medium, which were incubated at 37°C for 24 hours, followed by the CAMP test. There was a high frequency of positive colonization of *S. agalactiae* in this study (40%), mainly in patients between the 34th and 37th weeks of pregnancy (64%). These results highlight the importance of including vaginal and perianal culture exams for this microorganism in prenatal testing.

Keywords

Streptococcus agalactiae; Pregnancy; Fetal membranes; Neonatal mortality

REFERÊNCIAS

- Oliveira VMM, Moraes Filho OB. Solicitar ou não cultura para *Streptococcus* do grupo B no final da gestação? Rev. Femina. 2009;37(7):361-5.
- Jacociunas LV, Picoli SU. Avaliação de Infecção Urinária em Gestantes no Primeiro Trimestre de Gravidez. Rev. Bras. Anál. Clín. 2007;39(1):55-7.
- Alger LS, Lovchik JC, Hebel JR, Blackmon LR, Crenshaw MC. The association of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and group B streptococci with preterm rupture of the membranes and pregnancy outcome. Am J Obstet Gynecol. 1988;159(2):397-404.
- Duarte G, Marcolin AC, Quintana SM, Cavalli RC. Infecção Urinária na Gravidez. Rev Bras Ginecol Obstet. 2008;30(2):93-100.
- Cardoso D, Basso F, Carvalho RL. Estreptococo do grupo B na gestação: diagnóstico e conduta. Acta Méd (Porto Alegre). 2010;31:283-93.
- Bejar R, Curbelo V, Davis C, Gluck L. Premature labor. II. Bacterial sources of phospholipase. Obstet Gynecol. 1981;57(4):479-82.
- Pereira AC, Bordignon JC. Infecção Urinária em Gestantes: Perfil de Sensibilidade dos Agentes Etiológicos de Gestantes Atendidas pelo SUS na Cidade de Palmas - PR. Rev. Bras. Anál. Clín. 2011; 43(2):96-9.
- Rosen DA, Hooton TM, Stamm WE, Humphrey PA, Hultgren SJ. Detection of intracellular bacterial communities in human urinary tract infection. PLoS Med. 2007;4(12):e329.
- Chambo Filho A, Soares EP, Oliveira EM. Prevenção da infecção perinatal pelo estreptococo do grupo B. Rev Femina. 2003; 31(4):369-71.
- Daley AJ, Isaacs D; Australasian Study Group for Neonatal Infections. Ten-year study on the effect of intrapartum antibiotic prophylaxis on early onset group B streptococcal and *Escherichia coli* neonatal sepsis in Australasia. Pediatr Infect Dis J. 2004; 23(7):630-4.

Correspondência

Patrícia Renck Nunes

Av. Cristóvão Colombo, 117 – Floresta
Porto Alegre, RS



Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Brazilian Journal of Clinical Analysis

ISSN 0370-369-x – Versão Impressa

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A Revista Brasileira de Análises Clínicas (RBAC), criada em 1969, é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC). A RBAC tem circulação trimestral e seus artigos estão indexados no Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS). No Qualis-Periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), a RBAC se encontra nos seguintes estratos por área de avaliação: B4: interdisciplinar, saúde coletiva e biotecnologia; B5: farmácia, medicina I, II e III, medicina veterinária e odontologia.

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

A Revista Brasileira de Análises Clínicas (RBAC) é publicada em português e inglês e é dedicada à divulgação de pesquisa científica de qualidade metodológica reconhecida, relacionada às várias áreas das análises clínicas e da patologia clínica veterinária.

Ao submeter o original do manuscrito, os autores assumem a responsabilidade do manuscrito não ter sido previamente publicado e nem estar sendo simultaneamente analisado por outro periódico, quer na íntegra ou parcialmente, excetuando-se resumos ou relatórios preliminares publicados em anais de reuniões científicas. Todos os autores deverão assinar e encaminhar a **Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais**, assumindo formalmente a autoria pelo manuscrito e oficializando a cessão do copyright. A declaração assinada deverá ser remetida sob a forma de documento em ".pdf". As opiniões, asserções e conclusões emitidas nos manuscritos, bem como a veracidade das informações e citações bibliográficas são de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es).

Os autores deverão declarar no manuscrito qualquer potencial conflito de interesse, incluindo aqueles de natureza política e financeira. O documento formal de conflito de interesse é a Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais mencionada acima.

Os autores deverão declarar todas as fontes de financiamento ou suporte público ou privado recebidas para a realização do estudo. No caso de estudos realizados sem recursos financeiros, da mesma forma, os autores deverão declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

Quando a investigação envolver seres humanos, a publicação do manuscrito estará condicionada ao cumprimento irrestrito das diretrizes normativas do Conselho Nacional de Saúde (CNS) e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). A declaração de que os procedimentos seguidos nos experimentos estão em consonância com os princípios éticos aceitos pelas normativas nacional (Resolução CNS 196/96) e internacional (Declaração de Helsinki/ World Medical Association) deverá ser explicitamente firmada no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição responsável pela investigação deverá ser também aí declarado. Uma cópia em ".pdf" da autorização do CEP deverá ser encaminhada juntamente com o manuscrito. Quando se tratar de pesquisa com animais, as normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), bem como do Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (Institute for Laboratory Animal Research/ National Academy of Science - USA) deverão ser incondicionalmente respeitadas e seu cumprimento também deverá ser declarado, explicitamente, no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da instituição responsável pela pesquisa deverá ser igualmente declarado e uma cópia em ".pdf" da autorização do CEUA deverá ser, da mesma forma, encaminhada com o manuscrito. Quando os autores forem filiados a instituições não brasileiras, estes deverão declarar no manuscrito o cumprimento de diretrizes normativas e remeter documentação local de mesmo efeito legal.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* apoia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial de Saúde (OMS), do *International Committee of Medical Journal Editor* (ICMJE) e do *Workshop ICTRP*. Desse modo, somente serão aceitos para publicação os artigos de ensaios clínico-laboratoriais que tenham recebido um número de identificação em um dos registros de ensaios clínicos validados pelos critérios estabelecidos pela OMS e ICMJE. Entidades que registram ensaios clínicos segundo os critérios do ICMJE são: *Australian New Zealand Clinical Trials Registry* (ANZCTR), *International Standard Randomised Controlled Trial Number* (ISRCTN), *Netherlands Trial Register* (NTR), *UMIN Clinical Trials Registry* (UMIN-CTR), *WHO International Clinical Trials Registry Platform* (ICTRP). No entanto, o número de identificação obtido no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos - ReBEC (<http://www.ensaios-clinicos.gov.br>) do Ministério da

Saúde (DECIT/MS), Organização Panamericana de Saúde (OPAS) e Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) é igualmente aceito pela RBAC. O número de identificação/identificador primário deverá ser declarado ao final da seção **Material e Métodos**.

Apenas serão recebidos manuscritos que estejam rigorosamente de acordo com as normas aqui especificadas. Os manuscritos serão avaliados por, pelo menos, dois pareceristas/revisores indicados pelo Conselho Editorial e/ou pelos autores. Quando indicados pelos autores, deverá ser informado nome completo dos pareceristas/ revisores, e-mail e instituição de origem. O Conselho Editorial se reserva o direito, no entanto, de acatar ou não a sugestão de pareceristas/ revisores por parte dos autores. A aceitação dos manuscritos será feita em função da originalidade, importância e contribuição científica para o desenvolvimento da área. Manuscritos aprovados poderão sofrer alterações de ordem editorial, desde que não alterem o mérito do trabalho. Manuscritos recusados serão informados e devolvidos aos autores.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* está estruturada em 15 seções ou áreas temáticas, cuja indicação deverá ser feita pelos autores, no momento da submissão do manuscrito, sendo elas:

1. Bacteriologia Clínica
2. Virologia Clínica
3. Micologia Clínica
4. Parasitologia Clínica
5. Imunologia Clínica
6. Bioquímica Clínica e Biologia Molecular
7. Hematologia Clínica e Imunohematologia
8. Citologia Clínica e Anatomia Patológica
9. Boas Práticas de Laboratório Clínico e Biossegurança
10. Gestão e Controle da Qualidade no Laboratório Clínico
11. Bioética e Ética em Pesquisa
12. História da Saúde e Ensino das Análises Clínicas
13. Microbiologia de Alimentos
14. Patologia Clínica Veterinária/ Medicina Veterinária Laboratorial
15. Toxicologia Clínica e Biologia Forense

Os manuscritos poderão ser submetidos dentro das categoriais de comunicação científica designadas abaixo:

ARTIGOS ORIGINAIS: trabalhos nos quais são informados os resultados obtidos em pesquisas de natureza empírica ou experimental original, cujos resultados possam ser replicados e/ou generalizados. Deverão atender aos princípios de objetividade e clareza da questão norteadora. Os artigos originais deverão ser estruturados de maneira a conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 250 palavras), palavras-chave/keywords (3 a 6 termos), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto não deverá exceder 5.000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

ARTIGOS DE REVISÃO: trabalhos com avaliações críticas e sistematizadas da literatura sobre um determinado assunto que deverá dar ao leitor uma cobertura geral acerca do tema apresentado. Os artigos de revisão deverão conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract não estruturado (até 200 palavras), palavras-chave/keywords (3 a 6 termos), texto ordenado (títulos e subtítulos), opiniões e conclusões (quando couber) e referências bibliográficas (até 30 referências). O trabalho não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências. Estes trabalhos são escritos a convite do editor.

ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO: trabalhos descritivos e interpretativos com base em literatura recente sobre o estado atual de determinado assunto. Os critérios técnicos que deverão ser utilizados são os mesmos definidos para os Artigos de Revisão. Estes trabalhos são também escritos a convite do editor.

COMUNICAÇÃO BREVE: trabalhos originais cuja relevância para o conhecimento de determinado tema justifica a apresentação científica de dados iniciais de pequenas séries ou dados parciais de ensaios clínico-laboratoriais. Sua estruturação deverá conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 200 palavras), palavras-chave/keywords (3 a 6 termos), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 25 referências). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

RELATO DE CASO: trabalhos com descrição detalhada e análise crítica de casos clínico-laboratoriais atípicos que, pela sua raridade na literatura ou

apresentação não usual, merecem uma divulgação e discussão científica. Os relatos de casos deverão conter: título (até 200 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract com contexto e relato contendo descrição, discussão e conclusão (até 200 palavras), introdução, apresentação e relato do caso, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 25 referências). O texto não deverá exceder 3.000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

NOTA TÉCNICA: Descrição/ validação de instrumentos, métodos e técnicas. Sua estruturação deverá conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/abstract estruturado (até 200 palavras), introdução, metodologia e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto ordenado (títulos e subtítulos) não deverá exceder 5.000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

RESENHA: Revisão crítica de obra recém-publicada (até 3 anos), orientando o leitor quanto a suas características e usos potenciais. É fundamental que não se trate apenas de um sumário ou revisão dos capítulos da obra, mas efetivamente uma crítica. Este tipo de contribuição está limitado a 6 páginas, incluindo todos os seus elementos. Não há resumo/ abstract.

IMAGENS EM ANÁLISES CLÍNICAS: máximo de duas figuras com qualidade de 300 dpi gravadas em ".jpg" ou ".tiff" e até 3 autores e três referências que não deverão ser citadas no texto. As imagens deverão conter título descritivo. O texto deverá conter um máximo de 300 palavras com ênfase na caracterização das figuras. Agradecimentos não deverão ser declarados.

CARTA AO EDITOR: correspondências de conteúdo científico com comentários, discussões ou críticas a artigos recentes (dois números anteriores) publicados na *Revista Brasileira de Análises Clínicas* ou ainda com relatos de pesquisas originais, achados técnico-científicos significativos, opiniões qualificadas sobre um tema específico das análises clínicas, bem como menções ou obituários de personalidades da área da saúde e análises clínicas onde deverá ser destacado seu perfil científico e sua contribuição acadêmica e profissional. Os autores de artigos originais citados por terceiros serão convidados a responder aos comentários e críticas a eles dirigidos. Nesta categoria, o texto tem formato livre, mas não deverá exceder 500 palavras e 5 referências

EDITORIAIS: escritos a convite do editor, sob tema específico, mas considerando a área de enfoque da *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. Deverão conter um máximo de 2.000 palavras e até 10 referências bibliográficas. Não serão aceitos editoriais enviados espontaneamente

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* avalia manuscritos para publicação em português e inglês. Manuscritos em português devem estar em consonância com a norma culta. A submissão de manuscritos em inglês é **enfaticamente** estimulada pelo Conselho Editorial. Quando neste idioma, recomenda-se a revisão por profissional que tenha o inglês como primeira língua e que, preferencialmente, esteja familiarizado com a área do trabalho. O Conselho Editorial, caso considere necessário, poderá enviar os manuscritos submetidos em inglês para um revisor do idioma, repassando os custos aos autores, após a autorização expressa dos mesmos

A estrutura geral do manuscrito deverá acompanhar a normalização técnica conforme o quadro abaixo:

ESTRUTURA DOS ARTIGOS	
Português	Inglês
Título Completo <i>Incluir versão em Inglês</i>	Complete Title <i>Incluir versão em Português</i>
Título Corrido <i>Incluir versão em Inglês</i>	Running Title <i>Incluir versão em Português</i>
Autores	Authors
Resumo <i>Incluir versão em Inglês</i>	Abstract <i>Incluir versão em Português</i>
Palavras-Chave <i>Incluir versão em Inglês</i>	Keywords <i>Incluir versão em Português</i>
Introdução	Introduction
Material e Métodos	Material and Methods
Ética	Ethics
Resultados	Results
Discussão	Discussion
Conclusão	Conclusion
Conflito de interesse	Conflicts of Interests
Suporte Financeiro	Funding Sources
Agradecimentos	Acknowledgements
Referências	References

TÍTULO COMPLETO: Deverá ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho. Recomenda-se iniciar pelo termo que representa o aspecto mais relevante da pesquisa com os demais termos em ordem decrescente de importância. O título não deverá conter nenhuma abreviatura e os nomes das espécies ou palavras em latim deverão vir em letras minúsculas (excetuando-se, quando for o caso, a primeira letra da palavra) e em itálico.

TÍTULO CORRIDO: Deverá ser resumido e conter a ideia central do trabalho. **AUTORES:** Os nomes completos dos autores por extenso, graus acadêmicos e filiação institucional deverão ser mencionados. O nome completo, endereço profissional, telefone e e-mail do autor responsável pelo manuscrito deverá ser especificado.

RESUMO: Deverá ser redigido de forma impessoal, ser conciso e claro, pondo em relevo, de forma precisa, os fatos de maior importância encontrados e as conclusões obtidas. Deverá ser elaborado de forma estruturada, contendo introdução, objetivos, material e métodos, resultados, discussão e conclusões. Referências não deverão ser citadas e o emprego de acrônimos e abreviaturas deverá ser limitado.

PALAVRAS-CHAVE: Deverão ser indicados termos que permitam a identificação do assunto tratado no trabalho. As palavras-chave deverão ser extraídas do vocabulário DeCS (Descritores em Ciências da Saúde), elaborado pela Bireme, e/ou MeSH (*Medical Subject Headings*), elaborado pelo NLM (*National Library of Medicine*). Os vocabulários DeCS (<http://decs.bvs.br/>) e MeSH (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>) deverão ser consultados, pois nenhuma outra palavra-chave será aceita.

INTRODUÇÃO: Deverá apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto. Nesta seção, as citações deverão ser restringidas ao mínimo necessário. A introdução não deverá incluir ainda dados ou conclusões do trabalho em referência. O último parágrafo deverá expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do resumo.

MATERIAL E MÉTODOS: Deverão ser apresentados de forma breve, porém suficiente para possibilitar a reprodução e replicação do trabalho. Nesta seção deverão ser informados o desenho experimental e o material envolvido, bem como a descrição dos métodos utilizados. Métodos já publicados, a menos que tenham sido extensamente modificados, deverão ser referidos apenas por citação. Fontes de reagentes e equipamentos (empresa, cidade, estado e país) deverão ser mencionados. Nomes que são marcas registradas deverão ser também, claramente, indicados. Para melhor leitura e compreensão, subtítulos poderão ser estabelecidos

ÉTICA: Nesta seção, deverá ser declarado, textualmente, o cumprimento da legislação, quando estudos com seres humanos ou animais forem procedidos. Deverá ser mencionada também a aprovação do Comitê de Ética correspondente da instituição à qual pertencem os autores responsáveis pelos experimentos, inclusive, informando, claramente, o número do parecer. O Corpo Editorial da Revista poderá recusar artigos que não cumpram rigorosamente os preceitos éticos da pesquisa.

RESULTADOS: Deverão ser apresentados em sequência lógica e com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal e acompanhados de gráficos, tabelas, quadros e ilustrações. Os dados constantes nesses elementos gráficos, no entanto, não deverão ser repetidos integralmente no texto, evitando-se, desse modo, superposições. Apenas as informações mais relevantes deverão ser transcritas e enfatizadas.

DISCUSSÃO: Deverá ficar restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, procurando, sempre que possível, uma correlação com a literatura da área. Não deverá ser incluída uma revisão geral sobre o assunto. A repetição de resultados ou informações já apresentadas em outras seções, bem como especulações que não encontram justificativa para os dados obtidos deverão ser evitadas.

CONCLUSÕES: Deverão ser concisas, fundamentadas nos resultados e na discussão, contendo deduções lógicas e correspondentes aos objetivos propostos. Em alguns casos, poderá ser incluída no item discussão, não havendo necessidade de repeti-la em item a parte.

CONFLITOS DE INTERESSE: Deverá ser informada, de maneira explícita, por todos os autores, a existência ou não de conflitos de interesse que podem derivar do trabalho. Não havendo conflitos de interesse, deverá ser escrito "Não há conflitos de interesse".

SUPORTE FINANCEIRO: Deverão ser informados todos os tipos de apoio, fomento ou financiamento obtidos para a realização do projeto de pesquisa.

AGRADECIMENTOS: Deverão ser curtos, concisos e restritos àquelas pessoas e/ou instituições que colaboraram com auxílio técnico e/ou recursos. No caso de órgãos de fomento, não deverão ser utilizadas siglas.

TABELAS: O título deverá ser breve e descritivo, apresentando de maneira precisa seu conteúdo e o contexto [ou amostra] a partir do qual a informação foi obtida. Deverá estar ainda inserido na parte superior da ilustração e ser precedido pela palavra "Tabela", seguida por um número identificador em algarismos arábicos. A numeração das tabelas deverá ser feita consecutivamente, a partir da ordem de citação no texto. Serão permitidas notas explicativas de rodapé [legendas], indicadas por asteriscos e dispostas ao final da tabela. Para notas

de rodapé, deverá ser utilizado algarismos romanos. As tabelas deverão ser elaboradas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e em sua parte inferior e sem linhas verticais. Não deverão ser utilizadas também linhas horizontais internas. Os dados das tabelas deverão ser digitados em tamanho 10 e com minúsculas, excetuando-se as letras do início das palavras e as siglas. Nas tabelas, deverá ser empregado espaçamento entrelinhas 1,5, sem qualquer forma de tabulação ou recuos de parágrafos. O comprimento da tabela não deverá exceder 55 linhas, incluindo título, e apresentar largura máxima de 17cm. Os dados apresentados em tabelas não deverão ser repetidos em gráficos. As tabelas deverão ser compostas em programa Word ou MS-Excel e enviadas em arquivo separado. Deverá ser evitado um número excessivo de tabelas.

FIGURAS: Todas as ilustrações que não se enquadram no conceito de tabela são consideradas figuras, portanto: **quadros, gráficos, desenhos, imagens e fotografias.** Deverão ter um título breve e descritivo, disposto em sua parte inferior. Deverão ainda ser numeradas com algarismos arábicos, consecutivamente, na ordem de aparecimento no texto e citadas como figuras. As figuras deverão ter boa resolução (mínimo de 300 dpi), ser gravadas em formato ".jpg" ou ".tiff" e medir no mínimo 12 x 17cm e no máximo 20 x 25cm. As escalas deverão ser indicadas por uma linha ou barra na figura e referenciadas, se necessário, na legenda. Os gráficos deverão ser preparados nos programas Microsoft Word ou MS-Excel em formato ".doc", ".docx" ou ".xls" e não como imagem. Imagens produzidas em software estatístico devem ser convertidas para formato MS-Excel, caso não seja possível converter para formato ".tiff". Ilustrações coloridas somente poderão ser aceitas se os autores assumirem os custos. Os dados apresentados nas figuras não deverão repetir aqueles já descritos nas tabelas. Os locais aproximados onde as ilustrações serão colocadas deverão ser determinados no texto. As figuras deverão ser enviadas em arquivos separados. Não deverá ser enviado um número excessivo de figuras.

REFERÊNCIAS: As referências, em todas as categorias de trabalho científico, deverão ser normalizadas de acordo com o estilo Vancouver publicado em *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* (Normas para Uniformização de Manuscritos Submetidos às Revistas Biomédicas) pelo *International Committee of Medical Journal Editors* [ICMJE] (<http://www.icmje.org>) e que pode ser consultado em www.scielo.br/pdf/rcbc/v35n6/v35n6a14.pdf (Versão em Português) ou em www.icmje.org/urm_full.pdf (Versão em Inglês). A abreviação dos títulos dos periódicos deverá seguir o recomendado em *List of Journals Indexed in Index Medicus* [*National Library For Medicine*] (<http://www.nlm.gov/tsd/serials/lji.html>) ou no Portal de Revistas Científicas em Ciências da Saúde [Biblioteca Virtual em Saúde] (<http://portal.revistas.bvs.br/index.php?lang=pt>). Sugere-se incluir aquelas referências estritamente pertinentes à problemática abordada e evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. **A lista das referências deverá ser numerada de acordo com a ordem em que os autores foram citados no texto e não em ordem alfabética.** Deverão ser listados somente os trabalhos consultados e citados no texto. Citações de "resumo", "dados não publicados", "comunicações pessoais" ou "no prelo" poderão ser adequadamente mencionados no texto, mas não serão aceitos como referências bibliográficas. A exatidão das referências será de responsabilidade exclusiva dos autores.

As citações e menções no texto de informações colhidas em outras fontes, bem como as referências bibliográficas deverão seguir o exposto abaixo:

TEXTO: Deverá ser utilizado em todo o manuscrito o **Sistema de Chamada Numérico.** Neste sistema, as citações dos documentos deverão ter numeração única e consecutiva, indicada pelo número da referência em expoente e entre parênteses. Os autores serão numerados por ordem de sua citação no texto, independentemente da ordem alfabética. As referências citadas em legendas de tabelas e figuras deverão manter a sequência com as referências citadas no texto. O mesmo trabalho mencionado mais de uma vez deverá manter, sempre que aparecer, o primeiro número a ele atribuído.

Observações Gerais:

- Quando houver dois autores, deverá ser utilizada a partícula "e" entre os sobrenomes;
- Quando houver 3 ou mais autores, deverá ser indicado apenas o primeiro sobrenome seguido da expressão latina "et al.";
- Quando uma entidade, corporação, editores ou projetos editoriais assumirem a responsabilidade integral pelo documento deverão ser indicados/ tratados como autores;
- Nomes contendo mais de um sobrenome deverão ser indicado o último sobrenome, sem partículas de ligação como "de" ou "da";
- Sobrenomes duplos, com hífens ou apóstrofes ou que formem uma expressão deverão ser indicados em seu conjunto;
- Termos relacionados a graus de parentesco (filho, júnior, neto, sobrinho), deverão ser indicados após os sobrenomes e por extenso.

Alguns exemplos de citações:

- **Um/dois autores:** No mesmo ano, Nishimura e Miyajiri⁽²⁶⁾ mudaram a denominação do fungo para *Hortaea werneckii*, em homenagem a Parreiras Horta.
- **Mais de dois autores:** Giannopoulos *et al.*⁽³²⁾ também observaram maior prevalência de NIC 1 em mulheres na faixa etária de 20 a 30 anos enquanto NIC 3 foi mais frequente em mulheres com mais de 50 anos.

- **Autores corporativos:** De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes,⁽¹⁷⁾ os sinais e sintomas de hiperglicemia incluem: polidipsia, poliúria, perda de peso, fome exagerada, visão embaçada, infecções repetidas na pele e mucosas, dificuldade na cicatrização de ferimentos, fadiga e dores nas pernas (má circulação).

- **Editores/ Projetos editoriais:** Conforme o Dicionário de Especialidades Farmacêuticas,⁽⁵⁾ a meia-vida inicial da anfotericina B é de 24-48 horas e sua meia-vida terminal é de 15 dias.

- **Sem indicação de nome de autor:** O diagnóstico de hipertireoidismo, por sua vez, é dado a partir de resultados baixos de T4 livre e elevados de TSH.⁽¹⁴⁾

AUTORES: Os autores deverão ser referenciados por seu sobrenome, tendo apenas a primeira letra em maiúscula, seguido do(s) nome(s) abreviado(s) e sem vírgulas e pontos. **Todos os autores** deverão ser referenciados e separados por vírgulas (o mesmo é válido para livros), apesar do estilo Vancouver recomendar que apenas sejam indicados os 6 primeiros autores, quando o número de autores for maior. Deverão ser dados espaços após as vírgulas.

Observações Gerais:

- Quando o documento consultado possuir apenas editores ou compiladores, esta condição deverá ser indicada logo após os nomes dos autores;
- Quando a autoria do documento for de uma organização, a referência deverá ser iniciada diretamente pelo nome da entidade. Se houver mais de uma entidade com subordinação entre elas, estas deverão entrar em ordem decrescente de hierarquia e serem separadas por pontos. Se as entidades não apresentarem subordinação, estas deverão ser separadas por ponto e vírgula;
- Quando o documento consultado não possuir autoria, a referência deverá ser iniciada por seu título;
- Quando o documento consultado for tese, dissertação ou monografia deverá ser empregada a seguinte correspondência entre tipo e grau: tese: doutorado, tese: livre-docência, tese: PhD, dissertação: mestrado, monografia: especialização, monografia: graduação;
- Quando o documento consultado for de natureza jurídica (Constituição Federal ou Estadual, Emenda Constitucional, Medida Provisória, Leis, Decretos, Portarias, Resoluções e Códigos), deverão ser seguidos os padrões de autoria/ emissão recomendados pela NBR 6023 da Associação Brasileira de Normas e Técnicas (ABNT, 2002), com a apresentação gráfica adaptada ao estilo de Vancouver.
- Toda informação adicionada à referência que for encontrada em alguma fonte que não o documento consultado ou informação complementar à referência como suporte do documento ou tradução de alguma expressão deve ser adicionada entre [colchetes].

TÍTULO DE ARTIGOS/ DOCUMENTOS: Os títulos dos artigos/ documentos consultados deverão ser referenciados em letras minúsculas, no entanto, a primeira palavra deverá ser iniciada por letra maiúscula. Não deverão ser escritos em itálico e devem ser finalizados por ponto.

TÍTULO DE PERIÓDICOS/ REVISTAS E ANO: Os títulos de periódicos/ revistas consultados deverão ser referenciados abreviados e finalizados com ponto. Importante considerar que todos os pontos da abreviatura do título deverão ser eliminados, com exceção do último, empregado para separar o título do ano. Um espaço deverá ser dado entre o ponto colocado ao final do título e o ano. A separação entre ano e volume deverá ser feita utilizando-se ponto e vírgula.

MÊS, VOLUME, NÚMERO E PÁGINAS: O estilo Vancouver recomenda que os meses sejam referenciados em inglês e de forma abreviada, independente da língua do texto: Jan, Feb, Mar, Apr, May, Jun, Jul, Aug, Sep, Oct, Nov, Dec. No entanto, a RBAC aceita a abreviação em português daqueles manuscritos nesse idioma. Quando o periódico apresentar paginação contínua ao longo de um volume, o mês e o número poderão ser omitidos. Ano, volume, número e páginas deverão ser escritos sem qualquer espaço entre eles. Quando as páginas do artigo consultado exibirem números coincidentes, deverão ser eliminados os números iguais [445-449, utilizar: 445-9].

EDIÇÃO E LOCAL DE PUBLICAÇÃO: As edições de documentos consultados deverão ser referenciadas após o título, em algarismos arábicos, seguidas de ponto e da palavra "edição" no idioma que figura na publicação original e de forma abreviada. Quando for a primeira edição, essa não deverá ser indicada. Quando houver a definição do local de publicação, este deverá ser indicado em seguida à edição.

PARÁGRAFOS: Quando a referência ocupar mais de uma linha, esta deverá ser reiniciada na primeira posição na linha inferior, sem recuos.

Alguns exemplos de referências:

Periódicos:

- **Um Autor:** Marques SA. Paracoccidiodomycosis. Clin Dermatol. 2012 Nov;30(6):610-5.
- **Mais de um autor:** Lee MY, Telisinghe PU, Ramasamy R. Cervical cancer in Brunei Darussalam. Singapore Med J. 2012 Sep;53(9):604-7.
- **Até seis autores:** Okita Y, Narita Y, Miyakita Y, Ohno M, Nagai S, Shibui S. Management of cytomegalovirus infection in a patient with malignant glioma treated with temozolomide and steroids. Intern Med. 2012;51(20):2967-71.
- **Mais de seis autores:** Espinel-Ingroff A, Aller AI, Canton E, Castañón-Olivares LR, Chowdhary A, Cordoba S, et al. Cryptococcus neoformans-

Cryptococcus gattii Species Complex: an International Study of Wild-Type Susceptibility Endpoint Distributions and Epidemiological Cutoff Values for Fluconazole, Itraconazole, Posaconazole, and Voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012 Nov;56(11):5898-906.

• **Autores pessoais e corporativos:** Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al; Members of LAST Project Work Groups. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *J Low Genit Tract Dis*. 2012;16(3):205-42.

• **Volume com suplemento:** Maljaars J, Peters HP, Masclee AM. The gastrointestinal tract: neuroendocrine regulation of satiety and food intake. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007 Dec;26 Suppl 2:241-50.

• **Número com suplemento:** Komrokji RS, Verstovsek S, Padron E, List AF. Advances in the management of myelofibrosis. *Cancer Control*. 2012; 19(4 Suppl):4-15.

• **Editorial com indicação de autoria:** Tamaoki J, Saito H. Diagnosis, evaluation and monitoring of asthma [editorial]. *Allergol Int*. 2012;61(3):351-2.

• **Editorial sem indicação de título:** Bartels PD. Editorial. *Ugeskr Laeger*. 2012;174(42):2518.

• **Artigo/ Editorial sem indicação de autoria:** Improved and Emerging Gel-free Separation and Detection Methods for Proteomics [editorial]. *Proteomics*. 2012;12(19-20):2902-3.

• **Carta ao editor:** Dettken M, Conrad A. Hand hygiene prevents MRSA transmission [letter]. *Dtsch Arztebl Int*. 2010;107(8):139.

• **Artigo com DOI:** Newman TB, Pletcher MJ, Hulley SB. Overly aggressive new guidelines for lipid screening in children: evidence of a broken process. *Pediatrics*. 2012 Aug;130(2):349-52. doi: 10.1542/peds.2012-0481.

• **Autor corporativo:** Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of fungal infection associated with injection of methylprednisolone acetate solution from a single compounding pharmacy - United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2012 Oct 19;61:839-42.

Livros:

• **Um autor/ mais de um autor:** Stockham SL, Scott MA. Fundamentos da Patologia Clínica Veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2011.

• **Autor de obra e de capítulo:** Rey L. Bases da parasitologia médica. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

• **Capítulo:** Rodrigues RMMS, Nogueira MD. Fiscalização de alimentos por análise microscópica. In: Almeida-Muradian LB, Camargo Pentead MV. *Vigilância Sanitária: tópicos sobre legislação e análise de alimentos*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2007. p. 72-80.

• **Responsabilidade intelectual destacada:** Diniz D, Sugai A, Guilhem D, Squinca F, organizadores. *Ética em pesquisa: temas globais*. Brasília: Editora UNB; 2008.

Teses, Dissertações e Monografias:

• **Autor e indicação de grau:** Maranhão FCA. Análise da expressão gênica no dermatófito *Trichophyton rubrum* mimetizando a infecção in vitro: pH e diferentes fontes de carbono regulando genes. São Paulo. Tese [Doutorado em Genética] – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP; 2008.

Eventos Científicos:

• **Anais com indicação de título:** Anais do 5º Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007.

• **Anais com indicação de autoria, trabalho e título:** Neufeld PM, Melhem M, Szescs MW, Santos LH, Dornelas-Ribeiro M, Maia S, et al. Espécies de *Candida* isoladas de pacientes leucêmicos. In: Anais do 5. Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007. p. 314.

Órgãos/ Instituições:

• **Um autor corporativo:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes. Brasília: Ministério da Saúde; 2002.

• **Mais de um autor corporativo:** Fundação Oswaldo Cruz; Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro. Relatório de atividades: 2006. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2007.

Referências Legislativas:

• **Leis:** Brasil. Lei no. 8.080 de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 20 set 1990; seção 1.

• **Decretos:** Brasil. Decreto no. 7.580, de 28 de junho de 2011. Regulamenta a Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990, para dispor sobre a organização do Sistema Único de Saúde - SUS, o planejamento da saúde, a assistência à saúde e a articulação interfederativa, e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 29 jun 2011; seção 1.

• **Portarias:** Ministério da Saúde (Brasil). Portaria no. 2.616, de 12 de maio de 1998. Expede diretrizes e normas para a prevenção e o controle da infecção hospitalar. *Diário Oficial da União* 13 mai 1998; seção 1.

• **Resoluções:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para Funcionamento de Laboratórios Clínicos. *Diário Oficial da União* 14 out 2005; seção 1.

Meios Eletrônicos:

• **Periódicos:** Mondelli AL, Niéro-Melo L, Bagagli E, Camargo CH, Bruder-Nascimento A, Sugizaki MF, Carneiro MV, Villas Boas PJF. *Candida* spp.: manual identification (reference method) and automated identification (Vitek system platform). *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis* [periódicos na internet]. 2012 set [acesso em 29 de out 2012]; 18(3). Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jvatitd/v18n3/a11v18n3.pdf>.

• **Referências legislativas:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 306, de 13 de dezembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de saúde [resolução RDC na internet]. *Diário Oficial da União* 10 dez 2004 [acesso em 28 out 2012]. Disponível em: <http://www.unesp.br/pgr/pdf/rdc30604anvisa.pdf>.

• **Eventos Científicos:** Albuquerque P, Kyaw CM, Saldanha RR, Brigido MM, Felipe MSS, Silva-Pereira I. Identification and Characterization of Phase-Specific cDNAs Encoding for Two Hydrophobins in the Fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. In: 4o. Congresso Virtual de Micología de Hongos Patógenos em América Latina [evento na internet]. 2003 27jun-14jul; Caracas, Venezuela [acesso em 10 jul 2003]. Disponível em: <http://congresomicologia.ucv.ve>.

A tramitação de manuscritos será feita exclusivamente online pelo **Sistema de Gestão de Publicações (SGP)**, no endereço: www.sgponline.com.br/rbac/sgp. Outras formas de submissão, não serão aceitas.

Observações Gerais:

• A comunicação entre os diferentes participantes do processo editorial de avaliação e publicação (autores, revisores e editor) será feita apenas de forma eletrônica pelo SGP, sendo o autor responsável pelo manuscrito informado automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status;

• Apenas o autor responsável pelo manuscrito deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema e posterior acesso por meio de login e senha;

• A RBAC comunicará individualmente, por e-mail, a cada autor a sua participação no manuscrito. Caso um dos autores não concorde com sua participação, o manuscrito será recusado;

• O SGP atribuirá a cada manuscrito um número de registro e o autor principal será notificado de que o manuscrito está completo e apropriado para iniciar o processo de revisão;

• Pedidos de *fast-track* poderão ser considerados desde que justificados e solicitados por orientadores e/ou coordenadores de programas de pós-graduação ou responsáveis por departamentos, laboratórios, setores ou serviços de instituições públicas ou privadas ou ainda se rigorosamente fundamentados por seus autores. Os pedidos de *fast-track* deverão vir endereçados ao editor da RBAC em documento em papel timbrado da instituição e carimbado por seus superiores hierárquicos.

MODELO DE DECLARAÇÃO

Declaração de Responsabilidade, Conflitos de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais

Os autores abaixo assinados vimos submeter o artigo intitulado "Título do Artigo" à apreciação do Corpo Editorial da Revista Brasileira de Análises Clínicas - RBAC para sua publicação. Nesta oportunidade, declaramos estar de acordo com que os direitos autorais referentes ao artigo em tela tornem-se propriedade exclusiva da RBAC desde sua submissão, sendo vedada a reprodução total ou parcial, em qualquer meio de divulgação, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e concedida pela editoria da RBAC. Declaramos também que o artigo não infringe os direitos autorais ou qualquer outro direito de propriedade de terceiros e que seu conteúdo é de inteira responsabilidade dos autores. Declaramos ainda que este é um trabalho original e que não foi publicado anteriormente e nem está sendo considerado para publicação em outro periódico, tanto no formato impresso quanto no eletrônico. Os autores confirmam estar cientes e concordantes com a publicação do artigo na RBAC e afirmam não haver qualquer tipo de conflito de interesse do tema abordado no artigo com pessoas, entidades ou instituições.

Nomes dos autores e assinaturas:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Data: ____/____/____.