

ISSN 2448-3877



RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Volume 48 - nº 02 | Ano 2016

PRO-IN

Programa de Controle Interno da Qualidade

LINHA DE PRODUTOS PRO-IN PNCQ



Amostras para Controle Interno da Qualidade

Ampla linha de amostras-controle para Laboratórios Clínicos e Bancos de Sangue, produzidas em estrutura própria do PNCQ, obedecendo aos mais rigorosos padrões de qualidade.

O PNCQ fornece as amostras para controle interno em uma caixa especial, em quantidade mínima de 12 frascos, com redução de custo de remessa e possibilidade de parcelamento no boleto mensal.



Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

Lista de Analitos do programa PRO-IN

Antiestreptolisina O – ASO	Hemoglobina Glicosilada
Anti-HBc – IGG/IGM	Hemoglobina Hemocue
Anti-HBe	HIV
Auto-Imunidade	Hormônios
Biologia Molecular	Imunologia
Bioquímica	Lâminas BAAR e Gram
Chagas	Marcadores Cardíacos
CMV – IGG/IGM	Marcadores Tumorais
Coagulograma	Medicina do Trabalho
Co-Oximetria	Microalbuminúria
D-Dímero	Microbiologia
Dengue Ns1	Nucleic Acid Test – NAT – HBV,
Dengue, Pesquisa IGG, IGM	HCV, HIV
Drogas Imunossupressoras	Proteína C Reativa – PCR
Drogas Terapêuticas	Rotavírus, Pesquisa
Eletroforese de Hemoglobina	Rubéola - IGG/IGM
Eletroforese de Proteínas	Sangue Oculto, Pesquisa
Espectrofotometria	Sífilis – VDRL
Fator Reumatóide	Sorologia Para Banco de Sangue
Fatores da Coagulação	Sorologia Para Banco de Sangue
Gasometria	Architect
Glicemia – TLR (Teste Rápido)	Toxoplasmose - IGG/IGM
HBeAg	Urinalise – Análise Bioquímica
HCG	Urinalise – Tira Reagente
Hematologia	Vitamina D

Acesse o Catálogo de Produtos em nosso site e faça seu pedido.

Nossas Certificações:



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



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

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 Zoccolli (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 Comissions

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

Comissão de Congressos/Congress Comission:
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)

Sumário/Contents

CARTA DO PRESIDENTE/LETTER FROM THE PRESIDENT

- 91** Associação profissional para impulsionar as análises clínicas
Aquino JL

EDITORIAL/EDITORIAL

- 93** A Humanização no Laboratório Clínico
Humanization in Clinical Laboratory
Neufeld PM

ARTIGO DE REVISÃO/REVIEW

- 96** Diagnóstico laboratorial de aspergilose invasiva: avaliação de métodos moleculares e detecção de antígenos
Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis: review of molecular methods and detection of antigens
Gavronski S, Botelho TK, Cordova CM
- 110** Esquistossomose mansônica e translocação bacteriana: existe associação?
Schistosomiasis mansoni and bacterial translocation: Is there an association?
Lima KM, Teles RB, Castro CM

ARTIGO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

- 118** Frequência de pneumonia associada à ventilação mecânica com base em resultados de culturas quantitativas de secreções traqueais
Pneumonia frequency associated to mechanical ventilation based on crop of quantitative results of tracheal secretions
Canzi KR, Colacite J
- 123** Avaliação dos níveis de EC-SOD em voluntários utilizando o método de inibição da autooxidação da adrenalina
Assessment levels EC-SOD in volunteers using inhibition of epinephrine oxidation method
Machado FD, Campos CA, Vingert TP, Ziulkoski AL, Perassolo MS
- 129** Enterobactérias produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado (ESBL) em uroculturas de transplantados renais: frequência e perfil de resistência
Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing enterobacteria in urine cultures of renal transplanted patients: frequency and resistance profile
Rodrigues FC, Mesquita AR
- 133** Evolução temporal da mortalidade por câncer de tireoide no Brasil no período de 2000 a 2012
Temporal evolution of mortality by thyroid cancer in Brazil in the period of 2000-2012
Santos LM, Sales DF, Brito VS, Feitosa CA
- 138** Avaliação da infecção pelo Papiloma Vírus Humano (HPV) em exames citopatológicos
Human Papillomavirus infection evaluation in cytopathological exams
Libera LS, Alves GN, Souza HG, Carvalho MA
- 144** Avaliação das provas da hemostasia primária em indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana
Evaluation of primary hemostasis tests of individuals treated in dental clinics at the State University of Feira de Santana
Bittencourt NC, Santos PN

COMUNICAÇÃO BREVE/SHORT COMMUNICATION

- 149** Avaliação da glicemia capilar e do percentil do índice de massa corpórea em estudantes do ensino médio
Evaluation of the capillary blood glucose and the body mass index percentile in high school students
Amaral NE, Oliveira IB, Viana BG
- 153** *Strongyloides stercoralis* e outros parasitas intestinais na população humana da região norte do Paraná identificados utilizando diferentes métodos parasitológicos
Strongyloides stercoralis and other intestinal parasites in human populations of northern Paraná region identified by using different parasitological methods
Bosqui LR, Pereira VL, Custódio LA, Menezes MC, Murad VA, Almeida RS, et al.
- 160** Análise da rentabilidade em laboratórios de análises clínicas
Analysis of profitability in clinical analysis laboratories
Bastos DR
- 165** Vaginose bacteriana diagnosticada em exames citológicos de rotina: prevalência e características dos esfregaços de Papanicolaou
Bacterial vaginosis diagnosed in routine cytology tests: prevalence and characteristics of Papanicolaou smears
Toninato LG, Irie MM, Consolaro ME, Teixeira JJ, Boer CG
- 170** INSTRUÇÕES AOS AUTORES / INSTRUCTIONS FOR AUTHORS



Jerolino Lopes Aquino

Associação profissional para impulsionar as análises clínicas

Há tempos sabemos que "uma andorinha só não faz verão", por isso, é importante saber viver em sociedade, pensar no coletivo, onde todos se ajudam e colaboram para um mundo melhor. Na área profissional e nas análises clínicas não poderia ser diferente.

Com isso em mente, a Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC investiu muito para expandir ainda mais sua atuação a fim de dar a todos os profissionais, estudantes, empreendedores e empresários das análises clínicas oportunidade de crescimento e apoio para seu desenvolvimento profissional e sustentabilidade ao setor.

Não é fácil chegar aos 49 anos de existência e, ainda assim, ser atual. Mas temos conseguido! Em 2015, a SBAC atualizou seu site, marcando presença relevante nas redes sociais mais importantes, disponibilizou um aplicativo que aproximou e facilitou a comunicação entre seus sócios e a instituição, se tornando uma referência em análises clínicas nos meios digitais.

Em 2015, o 42º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas (CBAC) marcou história: além de pontuar a importante parceria entre Brasil e Portugal, através do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, realizou o 1º Fórum de Proprietários de Laboratórios, que reuniu donos de laboratórios e autoridades nacionais em saúde pública para discutir a realidade política e econômica do setor, mobilizando a classe também com o lançamento da Frente Parlamentar em Defesa dos Laboratórios de Análises Clínicas.

Mesmo sendo uma entidade de cunho científico, acreditamos que para sustentar e fazer prosperar profissionais e laboratórios, precisamos nos unir. Assim, a SBAC, junto a outras entidades de classe como SBPC/ML, FEHOSP, sindicatos e conselhos do setor, vem lutando pelo reconhecimento da importância da área, por reajustes que não acontecem há mais de 20 anos no setor público e melhores condições de negociação no setor privado, para garantir que as resoluções dos órgãos reguladores da saúde incluam os interesses das análises clínicas, mantendo uma presença constante e atuante junto ao Departamento de Laboratórios da Confederação Nacional de Saúde (CNS).

Durante esta administração, retomamos a *Revista Brasileira de Análises Clínicas - RBAC*, que agora é 100% digital, obtendo seu registro ISSN *online* e ainda sua indexação no LILACS e lançamos uma nova publicação, a SBAC no Laboratório (SBAC-L), com informações atualizadas e foco no profissional de bancada, abordando temas como diagnóstico e interpretação dos testes laboratoriais, aspectos técnico-científicos e sistemas de gestão, controle da qualidade e novidades da área.

Através das Regionais e Delegacias, estamos levando cursos de atualização presenciais às mais diversas regiões do País, uma vez que acreditamos que os excelentes profissionais e grandes promessas do setor estão por todo lugar. Temos, no momento, pelo menos cinco cursos oferecidos em três regiões distintas, além de videoaulas, tornando possível o acesso à atualização científica, onde e quando o aluno puder. As inscrições nos cursos *online*, em diversos cursos presenciais, e até a associação à SBAC, podem ser feitos agora *online*.

Neste ano, o 43º CBAC vem repleto de grandes nomes das análises clínicas e será realizado entre os dias 26 e 29 de junho em São Paulo, cidade de grande influência nacional e internacional. Com temas dos mais relevantes e atuais, o congresso ainda conta com uma centena de estantes de exposição, apresentação de trabalhos científicos e ótimas oportunidades de *networking*.

Convidamos todos a baixarem nosso aplicativo disponível para *smartphones* e *tablets* iOS, Android e Windows e acompanharem tudo que a SBAC tem a oferecer, conhecer a programação do 43º CBAC, concorrer a prêmios incríveis, fazer parte desde já do 2º Fórum de Proprietários de Laboratórios, que acontece de forma permanente aqui e no portal, e ainda participar do Quiz de Análises Clínicas, testando seus conhecimentos na área!

Sejam Bem-Vindos ao Futuro das Análises Clínicas!

Dr. Jerolino Lopes Aquino

Presidente da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC)

A Humanização no Laboratório Clínico

Humanization in Clinical Laboratory

Parece claro que humanizar é tornar-se humano. Neste sentido, dois conceitos podem ser apresentados. Um deles pode estar relacionado diretamente à evolução filogenética, biológica e antropológica do *Homo sapiens* ou das espécies de humanos ancestrais (*Australopithecus* sp. *Homo habilis*, *Homo erectus*, *Homo neanderthalensis*). Humanizar, todavia, pode ter ainda uma outra perspectiva. Humanizar pode estar associado a uma visão humanista, humanística, humanitária e/ou humanitarista das relações interpessoais, encerrando a ideia de um interesse pelo outro ser humano e sua essência, sempre levando em conta a ética, a dignidade e o bem-estar dos indivíduos.⁽¹⁾

Num sentido mais sociológico, a humanização está ligada à formulação de códigos de conduta e acordos de cooperação cuja base são os valores humanos coletivamente aceitos. Na esfera filosófica, a humanização encontra fundamento no humanismo, corrente que propõe a valorização do ser humano no âmbito de suas potencialidades e faculdades, ressaltando a capacidade de criação e transformação da realidade associada à generosidade, compaixão e preocupação com a condição humana.^(1,2)

Em sua origem, a mesma da filosofia, a medicina se assentava em princípios filosóficos, que via o homem de forma holística, sendo composto de corpo e espírito (emoções). Nesse sentido, a doença não era considerada de maneira isolada ou estanque, mas sim como algo ligado ao estado humano, à natureza circundante e às leis universais regentes. As causas das doenças deveriam ser pesquisadas não somente no órgão enfermo (corpo), mas também na essência do homem (espírito). Desse modo, o médico, além de ser um fisiologista e naturalista, tinha que ser também um humanista.^(3,4)

Com o passar do tempo, o modelo humanista foi sofrendo mudanças, rupturas e transformações e, mais recentemente, em decorrência do prodigioso avanço tecnológico do século XX, o conceito de medicina humanista, que a considerava não somente uma ciência, mas também uma arte, foi perdendo espaço para uma medicina dogmática, exata e biológica, apoiada totalmente na tecnociência e afastada das humanidades.⁽⁴⁾

Um dos impactos dessa tendência, no entanto, foi a desumanização do profissional de saúde, que se tornou um técnico-especialista com elevado conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos e farmacológicos, mas completamente indiferente aos aspectos humanos presentes nos pacientes, cuja condição, invariavelmente, é de fragilidade física e emocional.^(2,4)

O principal aspecto que envolve a humanização fundamenta-se exatamente no fortalecimento do comportamento ético em articular o cuidado técnico-científico ao cuidado que incorpora o acolhimento e o respeito ao outro como um ser que tem autonomia e dignidade.⁽⁵⁾

Humanizar, em análises clínicas, que, à semelhança do programa Humaniza SUS⁽⁶⁾ poderia ser chamado de HumanizaLab, é também tratar o paciente com atenção e respeito, sem que se perca, por isso, as características próprias da relação profissional dessa especialidade. A obrigação do analista clínico é atuar no melhor interesse do paciente tal e como entende a medicina laboratorial, respeitando sempre sua livre determinação. Os profissionais de análises clínicas devem es-

forçar-se para adquirir uma sólida formação humanística e cultural que permita conservar a visão do homem no seu conjunto, integrado no meio familiar e social.⁽³⁾

O produto final do trabalho do analista clínico é o laudo. Um laudo de qualidade vai além de uma boa técnica e um bom controle. Embutido nele deve estar o conceito de assistência humanizada, que se estende desde o pedido para a realização do exame laboratorial até a interpretação dos resultados pelo médico solicitante. Durante todo o período que envolve o exame laboratorial, três momentos são tecnicamente críticos e eticamente vulneráveis e, por isso, a humanização do atendimento deve estar sempre presente: Fase pré-analítica, fase analítica e fase pós-analítica.^(7,8)

Normalmente, a fase pré-analítica, inclui, a partir do pedido do exame pelo clínico, a preparação do paciente para a coleta do material biológico, a coleta propriamente dita do material biológico e o preparo da amostra para a análise laboratorial. Na fase analítica, ocorre a execução das análises e procedimentos pelos diversos setores especializados do laboratório clínico. Por fim, é na fase pós-analítica que ocorre a confecção de um laudo baseado nos dados e resultados obtidos pela investigação analítica. Na atualidade, os termos pré(pré)analítica e pós(pós)analítica têm sido também propostos para caracterizar as fases da realização de um exame laboratorial cujo laboratório têm pouco ou nenhum controle. A etapa pré(pré)analítica inclui a escolha pelo médico assistente dos exames mais adequados para a confirmação da suspeita clínica e à sua solicitação ao laboratório. A etapa pós(pós)analítica corresponde à interpretação dos resultados contidos no laudo pelo médico que assiste ao paciente.⁽⁹⁾

Humanizar constitui uma exigência ética que provem do respeito pela dignidade humana. Qualquer processo de humanização passará pelas relações interpessoais e por um agir com boa intenção. Desse modo, em todas as fases do exame laboratorial, a humanização na assistência pode produzir mudanças estruturais na relação analista clínico-paciente, em nível técnico e afetivo-emocional, levando à conscientização da necessidade de condutas e atitudes corretas e coerentes.⁽¹⁰⁾ No campo da fase pré-analítica, pode prevenir, por exemplo, tratamentos com descortesia, negligências com o cadastro e com informações relevantes oferecidas pelo paciente, orientações equivocadas ou não orientações acerca dos procedimentos inerentes aos exames laboratoriais, emprego de material não descartável, imperícias e imprudências nos procedimentos de coleta e lesões pós-punção venosa. Na fase analítica, previne também a utilização de kits reagentes com validade vencida e/ou sem certificado de qualidade, o uso de equipamentos sem as checagens com calibradores e controles internos e inferências de resultados para amostras que não foram submetidas às análises devidas. Na fase pós-analítica, previne erros na confecção e liberação de laudos e a quebra de privacidade e/ou confidencialidade pelo uso ou revelação de informações particulares ou confidenciais do paciente sem a sua expressa autorização e/ou consentimento.⁽¹¹⁻³⁾

No centro de um laboratório clínico humanizado, está o paciente. A humanização no laboratório permitirá que este ofereça respostas [laudos] não apenas científicas ou técnicas, mas também humanas, contendo acolhimento, proteção, respeito, atenção, compreensão, empatia, compaixão, dedicação, competência, entre tantas outras formas de agir de modo ético e humanizado.⁽¹⁰⁾

REFERÊNCIAS

1. Rios IC. Humanização: A Essência da Ação Técnica e Ética na práticas de Saúde. Revista Brasileira de Educação Médica. 2009;33(2):253-61.
2. Arias MDE & García AC. Bioética en las Ciencias de la Salud. Asociación Alcalá: Granada, 2001. 575pp.
3. Boladeros M. Bioética del Cuidado. Qué Significa Humanizar la Asistencia? Editorial Tecnos: Madrid, 2015. 293pp.

4. Gallian DMC. A (Re)humanização da Medicina. *Psiquiatria na Prática Médica*. 2001;33(2):1-6. Disponível em: <http://www2.unifesp.br/dpsiq/polbr/ppm/especial02a.htm>. Acesso em 20 jun 2016.
5. Bueno FMG & Bueno E. A Ética e a Humanização no Cuidado à Saúde. 2003. Disponível em: <http://lfc.nutes.ufrj.br/constructore/objetos/%E9tica%20e%20humaniza%E7%E3o.pdf>. Acesso em 20 jun 2016.
6. Santos Filho SB, Barros MEB, Gomes RF. A Política Nacional de Humanização como Política que se Faz no Processo de Trabalho em Saúde. *Interface*. 2009;13 (Supl. 1): 603-13.
7. Auler JA & Berti SMA. Ética das Virtudes e a Prática Médica nos Laboratórios de Reprodução Assistida. *Phronesis*. 2010;6: 80-99.
8. Vieira KF. Impacto da Implantação de um Programa de Acreditação Laboratorial Avaliado por Meio de Indicadores de Processo num Laboratório Clínico de Médio Porte. 20102. Dissertação (mestrado). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP). Programa de Fisiopatologia Experimental. São Paulo, 2012.
9. Vieira KF, Shitara ES, Mendes ME, Sumita NM. A Utilidade dos Indicadores da qualidade no Gerenciamento de Laboratórios Clínicos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2011; 47(3): 201-10.
10. Menezes RDB & Brito JHS. Humanização da Saúde: Da Intenção à Inteligência Emotiva pelas Ideias. *Ideias y Valores*. 2012;61(148):23-35.
11. Avilés JAC. La Ética en el Laboratorio. *Correo Científico Médico*. 2013;17(1): 84-6.
12. Cruz CF. Os Pontos Críticos das Fases Pré-Analítica e Pós-Analítica. 2012 Disponível em: http://www.lacen.saude.pr.gov.br/arquivos/File/SESLAB/Pontos_Criticos.pdf. Acesso em: 20 jun 2016.
13. OMS. Código de Ética de los Laboratorios. 2007. Disponível em: http://www.paho.org/spanish/ad/thsev/labs-guia_imp_codetica.pdf. Acesso em 20 jun 2016.

Paulo Murillo Neufeld, PhD

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

Diagnóstico laboratorial de aspergilose invasiva: avaliação de métodos moleculares e detecção de antígenos

Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis: review of molecular methods and detection of antigens

Suellen Gavronski¹

Tatiani Karini Rensi Botelho²

Caio Mauricio Mendes de Cordova³

Resumo

Os fungos do gênero *Aspergillus* constituem um dos principais causadores de infecções oportunistas em pacientes imunossuprimidos. Dentre as manifestações pulmonares que podem ser causadas por *Aspergillus*, a mais grave é sem dúvida a aspergilose pulmonar invasiva (API), uma infecção que vem apresentando um aumento significativo em sua frequência nos últimos anos. Levando em conta a imunossupressão do paciente e a dificuldade do diagnóstico clínico, a API apresenta um prognóstico bastante reservado, podendo inclusive levar o paciente a óbito. Com o objetivo de aumentar as chances de recuperação do paciente, uma busca constante de exames que possam indicar precocemente a presença de *Aspergillus* sp. no paciente vem sendo realizada. Um dos mais recentes avanços no diagnóstico de API está relacionado com a detecção do agente causador da doença por meio da realização de métodos moleculares (PCR) e também com a detecção de antígenos do *Aspergillus* em fluidos corporais, com ênfase especial para a galactomanana e o (13)- β -D-glucano. Apesar de parecerem promissores, tais métodos ainda não são utilizados rotineiramente e existem poucos estudos conclusivos a respeito de seu uso. A finalidade deste trabalho é avaliar imparcialmente as vantagens e desvantagens de sua utilização, bem como sua performance individual e combinada.

Palavras-chave

Aspergilose pulmonar invasiva; Diagnóstico; Patologia molecular; Antígenos

INTRODUÇÃO

Infecções fúngicas sistêmicas são uma frequente causa de morte em pacientes imunocomprometidos, com crescentes taxas de incidência e mortalidade. Os mais frequentes agentes patológicos, causadores de mais de 90% de todas as infecções fúngicas são a *Candida* sp. e o *Aspergillus* sp.⁽¹⁾

O gênero *Aspergillus* representa um grupo de microrganismos aos quais somos frequentemente expostos, já que suas espécies são sapróbios onipresentes na natureza. Este grupo de fungos é constituído por aproximadamente 180 espécies, mas apenas 34 são consideradas patogênicas para o ser humano. O *Aspergillus fumigatus* é a espécie mais comumente envolvida nos casos de aspergilose,⁽²⁾ mas há outros representantes que também podem ser responsáveis pelo desenvolvimento das infecções, embora numa frequência menor. São eles o *Aspergillus flavus*, o *Aspergillus niger* e o *Aspergillus terreus*.⁽³⁾

As infecções pelas espécies de *Aspergillus* causam um largo espectro de doenças nos humanos dependendo do estado imune do hospedeiro. Dentre as manifestações que podem ser causadas pelo *Aspergillus*, a mais grave é sem dúvida a aspergilose pulmonar invasiva (API), uma infecção de natureza sobretudo nosocomial, que vem apresentando um aumento significativo em sua frequência nos últimos anos, paralelamente com o aumento do número de pacientes com baixo status imunológico.

Em relação aos fatores que predis põem o hospedeiro ao desenvolvimento de uma infecção por *Aspergillus*, os maiores responsáveis pelo desenvolvimento da forma invasiva da doença seriam os casos de neutropenia e de transplante de medula óssea (TMO) e órgãos sólidos. A frequência da API encontra-se entre 5% e 15% em pacientes submetidos a transplantes de órgãos sólidos, 8% a 15% em pacientes que realizaram TMO e aproxima-se de 70% após 34 dias de neutropenia em indivíduos com qualquer malignidade hematológica.⁽⁴⁻⁷⁾ Além de frequente, a API nes-

¹BSc, Universidade de Blumenau – Blumenau, SC, Brasil

²MSc, Universidade de Blumenau – Blumenau, SC, Brasil

³Professor, Universidade de Blumenau – Blumenau, SC, Brasil

Instituição: Universidade de Blumenau

Artigo recebido em 14/12/2013

Artigo aprovado em 29/01/2016

ses pacientes apresenta uma alta taxa de mortalidade, que atinge 94% em alguns estudos,^(4,6,8,9) mas que predominantemente gira em torno de 58%.⁽¹⁰⁾

Em suma, o prognóstico não favorável da API é consequência tanto da imunossupressão do paciente quanto da dificuldade do diagnóstico clínico, já que a doença não apresenta sintomas específicos. Em virtude destes fatores, geralmente ocorre um atraso no início do tratamento, podendo resultar na morte do paciente. De fato, o diagnóstico precoce é um fator fundamental para a diminuição da mortalidade. Porém, infelizmente, a identificação do fungo não costuma passar de 30% dos casos e por isso existe uma busca constante de exames que possam indicar a presença de *Aspergillus* sp. no paciente imunodeprimido.⁽¹¹⁾

Até agora, o padrão ouro para diagnosticar a aspergilose invasiva é o exame histopatológico ou citopatológico pulmonar obtido por toracoscopia ou biópsia do pulmão. A presença de hifas no tecido analisado juntamente com a cultura positiva para *Aspergillus* do mesmo local onde a amostra foi colhida é diagnóstico de API. Entretanto, por ser um procedimento invasivo, a biópsia do local afetado é dificilmente realizada em razão do grande risco de hemorragia em pacientes com trombocitopenia.⁽¹²⁾ Além disso, outro grande problema relacionado com a análise histopatológica é a dificuldade em distinguir o *Aspergillus* de outros fungos filamentosos como *Penicillium* spp. e *Scedosporium* spp., já que os mesmos apresentam características morfológicas semelhantes e não específicas.⁽¹³⁾

A preparação da cultura das amostras coletadas, seja de sangue ou escarro, também não é considerada um método diagnóstico indicado em razão de possuir sensibilidade muito baixa, girando em torno de 25%. Além disso, uma cultura positiva nem sempre é indicativa da forma invasiva da doença, já que resultados falso positivos podem surgir em casos de colonização ou contaminação.⁽¹⁴⁾ Por sua vez, apesar da cultura de *Aspergillus* sp. poder definir as opções terapêuticas mais indicadas por meio da posterior realização do teste de suscetibilidade a antifúngicos – certas espécies como *A. terreus* apresentam resistência à anfotericina B,⁽¹⁵⁾ o fato de apresentar um crescimento lento e de só se tornar positiva quando a doença se encontra em estágio avançado inviabiliza a utilização deste método como diagnóstico padrão.⁽¹³⁾

Outro método comumente utilizado na identificação da API é a tomografia computadorizada do tórax do paciente. O principal achado seria a presença de um halo em volta de pequenos nódulos com crescente formação de ar. Estes sinais são característicos da aspergilose pulmonar invasiva em pacientes neutropênicos, mas, também, não constitui um método diagnóstico padrão em razão de ser relatado em uma variedade de outras doenças pulmonares.⁽¹⁶⁾

Com o objetivo de aumentar as chances de recuperação do paciente, uma busca constante de exames não

invasivos, rápidos e que possam indicar a presença de *Aspergillus* sp. no paciente com um alto índice de sensibilidade e especificidade vem sendo realizada. Recentemente, esta pesquisa tem focado na detecção de marcadores circulantes provenientes do próprio fungo em questão.⁽¹⁷⁾

Um dos mais recentes avanços no diagnóstico de API está relacionado com a detecção de antígenos de *Aspergillus* sp. nos fluidos corporais. Os principais antígenos são a galactomanana e o β -D-glucano, componentes da parede celular do fungo liberados durante seu crescimento.

Outro método diagnóstico que vem ocupando uma posição de crescente destaque em laboratórios de pesquisas médicas e biológicas é a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), na qual é possível detectar o DNA do agente causador da doença por meio da replicação *in vitro* de uma sequência alvo característica do microrganismo pesquisado.

Uma série de estudos vem sendo realizada recentemente com o objetivo de analisar a validade destes métodos de diagnóstico. Neste trabalho foi avaliado, por meio de uma revisão bibliográfica, qual destes métodos apresenta maior vantagem na detecção do *Aspergillus*, a fim de tratar a API precocemente, diminuindo, então, os altos níveis de mortalidade desta doença.

Para a realização da pesquisa, a base de dados utilizada foi o Pubmed e as palavras-chave pesquisadas incluíram os termos "Aspergillus", "PCR", "antigen detection", "galactomannan", bem como a sua combinação. De todos os 59 resultados, somente nove foram condizentes com os objetivos do estudo e, além destes, as referências bibliográficas dos artigos pesquisados também foram revisadas à procura de materiais que pudessem contribuir para o trabalho.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Detecção de antígenos

A detecção de antígenos circulantes para o diagnóstico de aspergilose invasiva foi primeiramente relatada em 1978. O primeiro *kit* de detecção de antígenos do *Aspergillus* era baseado na técnica de aglutinação indireta com partículas de látex para detecção da galactomanana, sendo rapidamente substituído em 1995 com a disponibilização do ELISA (*Platelia Aspergillus EIA*), ensaio recentemente aprovado pelo FDA para utilização no diagnóstico da aspergilose invasiva quando realizado com amostras de soro.⁽¹⁸⁾

A galactomanana é um polissacarídeo que faz parte da camada externa da parede celular de *Aspergillus*, sendo liberada durante seu crescimento. A técnica baseia-se num ELISA sanduíche e utiliza anticorpos monoclonais (EB-A2) de ratos que foram imunizados ao entrar em con-

tato com cepas de *Aspergillus fumigatus*. Tais anticorpos reconhecem o epítipo de galactofuranose da galactomanana, ligando-se a eles.⁽¹⁹⁾ Estes anticorpos reagem com diversas espécies de *Aspergillus*, incluindo *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. versicolor* e *A. terreus*, além de reconhecerem exoantígenos presentes em cepas de gêneros fúngicos variados, como o *Penicillium*, *Trichophyton*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Rhodotorula*, entre outros.

Por essa razão, apesar de ser um método relativamente fácil de ser realizado, é necessário muito cuidado durante a coleta, manipulação, transporte e, principalmente, durante o manejo do material biológico na realização do teste em si, a fim de evitar a contaminação do material biológico com outras espécies fúngicas que também possuem galactomanana. O teste também necessita de profissionais capacitados e com performances reprodutíveis, já que o ensaio possui um valor relativamente alto.

A detecção da galactomanana em amostras biológicas serve tanto para o monitoramento de pacientes suscetíveis ao desenvolvimento de aspergilose invasiva quanto para a avaliação da terapia realizada em pacientes já diagnosticados. Os índices de sobrevivência eram maiores em pacientes cujos níveis de antígenos diminuía durante a terapia. Por outro lado, níveis em constante aumento constituíam casos com mau prognóstico. Tais casos poderiam ser resultantes de um diagnóstico tardio, em que o tratamento foi iniciado muito tardiamente, ou de outro tipo de infecção, requerendo a mudança do tratamento.⁽²⁰⁾

Amostra utilizada

A detecção da galactomanana é predominantemente realizada em amostras de soro. Entretanto, apesar dos testes ainda não serem incluídos nos padrões do FDA pela ausência de padronização, a presença deste antígeno também pode ser detectada por meio da análise de tecidos e de outros fluidos biológicos, incluindo o lavado broncoalveolar, líquor e urina.⁽¹³⁾

Recentemente, a análise do lavado bronco-alveolar (LBA) vem ocupando uma posição de crescente destaque na pesquisa da galactomanana. Diversas pesquisas vêm sendo realizadas, mas o *cut-off* padrão que deve ser utilizado ainda não foi definido. Certos estudos mostram que, além de ser obtido de forma segura, o LBA apresenta maior sensibilidade (60%-100%) e especificidade (82%-100%) quando comparado ao soro em amostras de pacientes imunodeprimidos.⁽²¹⁾ Acredita-se que estes bons resultados estejam diretamente relacionados com o fato dos pulmões e das vias aéreas inferiores serem os locais mais seriamente afetados pelo *Aspergillus*, já que a principal via de penetração de *Aspergillus* sp. no homem e nos animais é a via inalatória.⁽²²⁾ Conseqüentemente, a presença do fungo acaba por liberar quantias maiores de galactomanana nestas

regiões, melhorando a sensibilidade diagnóstica da API com esta amostra.⁽²³⁾

Entretanto, este mesmo estudo relata que a detecção da galactomanana no soro foi mais rápida quando comparada com a amostra de LBA. Isso ocorreu em razão da broncoscopia e obtenção do LBA ter sido realizada somente após a visualização de infiltrados pulmonares na tomografia computadorizada. O estudo mostrou que a detecção da galactomanana no soro pode ser feita antes que os infiltrados pulmonares tornem-se visíveis nos exames de imagem. Logo, por se tratar de um método mais invasivo que a retirada de uma amostra de sangue, o LBA, por questões éticas, foi coletado somente após o aparecimento de evidências indicativas de API, mostrando então uma desvantagem em relação a este tipo de amostra.⁽²⁴⁾ Entretanto, se fossem realizadas concomitantemente, o estudo de HSU et al.⁽²¹⁾ mostra que o tempo para a amostra de LBA positivar seria menor quando comparado à amostra de soro. Tal diferença de tempo seria atribuída ao maior tempo que os fungos levariam para romper a barreira capilar-alveolar e alcançar a corrente sanguínea.⁽²⁵⁾

As amostras de LBA, porém, apresentam outras desvantagens, como a colonização comensal das vias aéreas do paciente por fungos que incluem o próprio *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., que, conforme dito, também apresenta a galactomanana em sua composição celular. Além disso, a quantidade de galactomanana depende diretamente de diversos fatores que variam muito no LBA, incluindo a quantidade de salina instilada durante a broncoscopia, a área lavada, o tempo gasto na lavagem e a quantidade de fluido retirado para análise. Existem dificuldades na padronização destes fatores já que, por exemplo, a instilação de 40 mL a 60 mL de salina numa criança seria excessiva, ao passo que, num adulto, poderia ser insuficiente.⁽²¹⁾

A detecção da galactomanana também pode ser feita na urina, apresentando uma sensibilidade mais baixa que o soro, e no líquor, quando há chances da aspergilose ter se disseminado para o sistema nervoso central. Alguns estudos demonstram que a detecção de galactomanana no líquor pode ser até mesmo mais sensível que a realização de cultura e PCR.^(17,26)

Fatores interferentes

Uma meta-análise realizada em 2006 relatou que o método apresenta índices de sensibilidade e especificidade de 79% e 86%, respectivamente, apresentando uma precisão de 89% nos resultados obtidos.⁽¹⁸⁾ Na maioria dos estudos, a especificidade do ELISA era maior que 85%, entretanto, apesar dos estudos usados para a aprovação do FDA mostrarem uma sensibilidade de 80%, em outros estudos a sensibilidade oscilava consideravelmente entre 29% e 100%.^(17,26)

Existem diversas razões que poderiam justificar estas diferenças, podendo estar relacionadas ao fungo, ao hospedeiro ou ao próprio método. Em relação aos fatores relacionados ao fungo, está a quantidade variável de epítomos que cada espécie do fungo possui. Sabe-se que são necessários no mínimo quatro epítomos de galactofuranose para que haja a ligação do anticorpo EB-A2. Por essa razão, amostras que contêm menos que quatro sítios de ligação disponíveis não serão detectadas pelo ELISA.⁽²⁷⁾ Estudos mostram que grande parte dos epítomos podem se tornar indisponíveis em razão de sua ligação com componentes sanguíneos, incluindo anticorpos⁽²⁸⁾ e outras proteínas humanas. É por essa razão que o primeiro passo do método consiste numa lavagem da amostra para retirar possíveis substâncias interferentes. A presença de abscessos também dificulta a liberação de antígenos na circulação, muitas vezes tornando-os indetectáveis.⁽²⁹⁾

Outro fator de extrema importância seria a quantidade de nutrientes necessários para a liberação da galactomanana pelos fungos. Em áreas necrosadas, em que a quantidade de nutrientes como o carbono e o oxigênio encontra-se diminuída, a liberação de antígenos é perceptivelmente menor.⁽¹⁷⁾

Quando o soro é a amostra analisada na procura da galactomanana, fatores como a chegada do antígeno à circulação também são relevantes. Assim que inalados, os conídios do *Aspergillus* se depositam nos alvéolos pulmonares. Dependendo do *status* imune do hospedeiro, o fungo pode ficar restrito às vias aéreas ou invadir a corrente sanguínea do hospedeiro, se disseminando e caracterizando a forma invasiva da doença. Existem duas teorias que justificam o alcance da corrente sanguínea pelo fungo, sendo elas a difusão livre através dos capilares e a formação de novos vasos sanguíneos (angiogênese), justificável em razão da grande quantidade de antígenos geralmente presentes na circulação. Acredita-se que o grau de angiogênese seja dependente de fatores como a baixa imunidade do hospedeiro, a condição patológica que levou o paciente a desenvolver a aspergilose invasiva (pacientes mais imunocomprometidos, como pacientes que passaram por transplante de medula óssea) e possível uso de medicações imunossupressoras (corticoides e ciclosporina), agentes citotóxicos e radiação.

Diversos fatores metodológicos e relacionados ao hospedeiro também interferem diretamente nos resultados obtidos. Um dos fatores que devem ser levados em conta é o tipo de população em que o teste é realizado. Estudos indicam que a incidência de aspergilose invasiva é maior em pacientes que fizeram transplante de medula óssea e neutropênicos, seguidos então por pacientes que realizaram transplante de órgãos sólidos. A precisão dos resultados torna-se maior nas populações que possuem de fato maior chance (> 5%) de apresentarem AI (maior valor

preditivo positivo (VPP)) e deve ser, portanto, restrito a estes grupos.^(17,30) Foi relatado no estudo publicado por Maertens et al. em 1999⁽³¹⁾ e em 2002⁽³²⁾ uma sensibilidade equivalente ou maior que 90% em pessoas com extrema imunossupressão, mas consideravelmente menor em pacientes com outros tipos de patologias imunossupressoras (como o transplante de pulmões, fígado e doenças granulomatosas crônicas). É interessante destacar que este método é considerado inviável em pacientes imunocompetentes, segundo estudo de Nguyen et al.⁽³³⁾ Neste estudo viu-se que nenhum caso de AI foi diagnosticado pela detecção de galactomanana em amostras de LBA além dos casos já diagnosticados pelos métodos convencionais, como a cultura e a microscopia feitas a partir de biópsias, não nocivas em pacientes imunocompetentes. Além disso, em um dos casos analisados, a positividade do ELISA seguida pela administração de antifúngicos resultou no atraso do tratamento da tuberculose de um paciente, implicando em sua morte.

Outro fator interferente nos resultados seria a classificação dos casos de acordo com a definição recomendada pelo Grupo de Infecções Fúngicas Invasivas da EORTC – *European Organisation for Research and Treatment of Cancer* e o Grupo de Micoses do NIAID – *National Institute of Allergy and Infectious Diseases*. Dentre as três classificações definidas (casos provados, prováveis e possíveis), os casos possíveis são geralmente excluídos das análises em razão de apenas 15% a 25% dos casos apresentarem confirmação de API.⁽³⁰⁾ São esses os casos que incluem pacientes imunocompetentes e que geralmente não se encontram em grupos de alto risco, aos quais a detecção de galactomanana não é compensadora.

Já em relação aos fatores metodológicos que podem interferir nos resultados obtidos, destaca-se a escolha do *cut-off* ideal. O teste possui um *cut-off* controle de aproximadamente 1 ng de galactomanana/mL e um controle negativo. A densidade óptica (DO) da amostra que foi medida após as incubações deve ser dividida pela densidade óptica do *cut-off* controle e o resultado é expresso como "índice de galactomanana", sendo considerado positivo quando possui resultados iguais ou maiores que 0,5, 1,0 ou 1,5, dependendo do país onde foi realizado.

Pelo fato de causar variações significativas nos resultados, a definição do *cut-off* ideal vem sendo alvo de discussão desde a disponibilização do ensaio. Na Europa, utiliza-se o *cut-off* de 1,5 recomendado pelo fabricante. Já nos EUA, utiliza-se um *cut-off* de 0,5. Um estudo realizado em 2010 por Hsu et al.⁽²¹⁾ relata que o *cut-off* indicado para amostras de LBA é de 1,1 (neste *cut-off*, a sensibilidade e a especificidade foram de 100% e 98%, respectivamente, sendo que a especificidade foi reduzida em 30% com a diminuição do *cut-off* para 0,5). Apesar dos títulos dos antígenos serem considerados mais importantes que o *cut-off* em si,

a falta de padronização interfere diretamente na interpretação dos resultados.⁽¹⁷⁾ Herbrecht et al.⁽³⁴⁾ relataram uma especificidade de 99,4% utilizando um *cut-off* de 1,5, 93,9% com um *cut-off* de 0,7 e 88,7% com um *cut-off* de 0,6. Becker et al.⁽²⁸⁾ relataram que a especificidade de 95% com um *cut-off* de 1,5 baixou para 93% com um *cut-off* de 1,0 e para 89% com um *cut-off* de 0,7. Em 2004, Maertens et al.⁽³⁵⁾ também relataram alterações semelhantes de acordo com o *cut-off* utilizado. Entretanto, apesar da especificidade reduzir 15% com a redução do *cut-off* de 1,0 para 0,5, quando dois resultados positivos eram obtidos em vez de apenas um, a especificidade do método aumentava em 13%, apesar da utilização de um *cut-off* de 0,5. Tal variação também nos leva a descrever a importância da repetição de um teste positivo a fim de se determinar a real positividade de uma amostra. Em pacientes com aspergilose pulmonar, como os índices de galactomanana aumentam de menos que 0,5 para mais que 1,0 no período de dois a três dias, recomenda-se que a obtenção e a análise de amostras sejam feitas duas vezes por semana a fim de se detectar a patologia precocemente. Acredita-se que o aumento nos índices de galactomanana sejam indicativos da evolução da doença.⁽¹⁷⁾ Entretanto, a dupla positividade pode ser alterada pelo *cut-off* utilizado já que o *cut-off* de 1,5, por ser consideravelmente alto, pode levar a atrasos no início do tratamento, bem como a resultados falso negativos.⁽¹⁹⁾ Por sua vez, o *cut-off* de 0,5 é considerado por muitos como sendo um índice muito baixo e não confirmatório da doença. Por vezes, resultados positivos com *cut-offs* baixos podem ser descritos em pacientes colonizados com o fungo. Entretanto, Husain et al.⁽³⁶⁾ evidenciam que a colonização fúngica em pacientes transplantados pode ser preocupante, já que muitos, em seguida, vieram a desenvolver a AI.

Resultados falso positivos/negativos

Uma série de outros fatores também pode estar relacionada a resultados falso positivos. Dentre eles, um que merece destaque é o uso de antibióticos betalactâmicos, como a amoxicilina em associação ou não com o ácido clavulânico e a piperacilina-tazobactam. Como estes são produtos resultantes da fermentação de *Penicillium*, fungo que também possui a galactomanana em sua composição, o uso destes antibióticos está relacionado ao aparecimento de resultados falso positivos.⁽³⁷⁾ A galactomanana não foi detectada em nenhuma outra classe de antibióticos.^(38,39)

Estudos mostram que a infusão da solução para reposição de eletrólitos *Plasma-Lyte* e o uso de ciclofosfamida também resultam no aparecimento de reações falso-positivas.^(26,40,41)

Resultados falso positivos também ocorrem numa frequência maior em crianças, sobretudo em prematuros. Tais resultados seriam decorrentes da ingestão de alimentos que contêm galactomanana (como o leite) e da coloni-

zação do intestino por bactérias do gênero *Bifidobacterium* sp.⁽⁴¹⁾ Tais bactérias produzem antígenos que reagem com o ELISA. Além disso, crianças, sobretudo neonatos, ainda não apresentam o pleno desenvolvimento de sua parede intestinal, facilitando a absorção de galactomanana por meio da alimentação.^(34,41,42)

A absorção elevada da galactomanana por meio da alimentação também ocorre em pacientes que realizaram transplante de medula óssea. Tal aumento ocorre em razão das lesões da mucosa intestinal causadas nas duas primeiras semanas após as sessões de quimioterapia realizadas nestes pacientes.⁽³⁴⁾

Outros fatores relacionados com resultados falso positivos são consequência da colonização por *Aspergillus* (interferindo predominantemente em amostra de LBA) e da reatividade cruzada com outros fungos, predominantemente pertencentes aos gêneros *Candida* e *Penicillium*, e bactérias, incluindo enterococos, estafilococos e *Escherichia coli*, microrganismos considerados comensais.

Interferentes raros como a contaminação de amostras de sangue com *swab* de algodão⁽⁴³⁾ e alimentação enteral com proteínas de soja⁽⁴⁴⁾ também foram identificados como possíveis causadores de resultados positivos.

Resultados falsamente negativos também são relativamente comuns neste método, principalmente em razão de *cut-offs* elevados e do uso de profilaxia antifúngica. Quando o paciente faz uso de algum tipo de terapia antifúngica, a detecção de antígenos no sangue é atrasada e a concentração no soro acaba sendo reduzida, resultando numa menor sensibilidade e especificidade.⁽⁴⁵⁾ Marr et al.⁽⁴⁶⁾ descreveram que os índices de sensibilidade caíram de 87% em pacientes que não fizeram uso de profilaxia para 20% em pacientes que receberam uma terapia antifúngica previamente.

Além disso, outros fatores que podem gerar resultados falso negativos incluem frequência inadequada da realização de testes, pacientes com poucas manifestações características de AI, pequeno volume de amostras e conservação da amostra acima do tempo recomendado.⁽¹⁹⁾

Entretanto, apesar dos múltiplos fatores que podem levar à obtenção de falsos resultados, as diferenças cinéticas da galactomanana em casos de resultados falso positivos, caracterizada pelo aumento abrupto e acentuado deste antígeno, podem ser corretamente interpretadas por profissionais qualificados. Além disso, o baixo limite de detecção da galactomanana (<1 ng/mL)⁽⁴⁷⁾ e a rapidez de sua realização (4 horas) e detecção, precedendo achados radiológicos em pelo menos uma semana, faz do *Aspergillus Platelia* EIA (ELISA) uma opção válida no diagnóstico da aspergilose invasiva.

(1 →3)-β-D-glucano (BDG)

Outra medida que pode ser utilizada no diagnóstico de infecções fúngicas invasivas consiste na detecção sérica

ou plasmática de (1→3)-β-D-glucano (BDG), um conjunto de moléculas antigênicas constituintes da parede celular de uma ampla gama de espécies de fungos, incluindo os principais agentes patogênicos causadores de infecções invasivas, *Candida* e *Aspergillus*.⁽⁴⁸⁾ O BDG também faz parte da parede celular de algumas plantas e algas, mas é ausente em vírus, procariotos e células humanas. Por essa razão, sua presença no sangue e em outros fluidos biológicos estéreis pode ser um marcador interessante da detecção de tais infecções.⁽⁴⁹⁾

Entretanto, em razão de sua presença ser detectada na presença de grande parte das espécies fúngicas, este método acaba falhando no estabelecimento de um diagnóstico específico, como a API, servindo apenas na constatação de que há uma infecção fúngica estabelecida.⁽¹³⁾ Todavia, apesar de não se tratar de um ensaio específico, o diagnóstico diferencial de micoses sistêmicas (incluindo as causadas por *Candida* e *Aspergillus*) pode ser facilmente realizado com base em achado clínicos e radiológicos.⁽⁵⁰⁾ É interessante notar que seus índices foram negativos na presença de infecções não sistêmicas, como a candidíase oral e não se elevaram acima de 20 pg/mL em casos de colonização oral, urinária e bronquial, diminuindo os casos falsos positivos.^(51,52)

Para a realização do método utiliza-se um extrato aquoso de amebócitos do caranguejo-ferradura (*Limulus polyphemus*), comumente utilizado na detecção de endotoxinas bacterianas em numerosos produtos farmacêuticos. Este extrato possui dois fatores de coagulação: o fator C, sensível às endotoxinas e o fator G, sensível ao (1→3)-β-D-glucano. Tal descoberta foi confirmada pelo fato do extrato livre de fator G ser específico na detecção de endotoxinas,⁽⁵³⁾ ao passo que o extrato livre de fator C torna-se específico na detecção do antígeno fúngico.⁽⁵⁴⁾ O princípio do método consiste na capacidade que o BDG tem de iniciar a cascata de coagulação pela ativação do fator G, acionando um substrato cromogênico que posteriormente possibilitará a leitura do resultado com base na intensidade da cor formada.

É interessante notar que o extrato de dois tipos de carrapato ferradura podem ser utilizados. Além do *Limulus polyphemus*, conhecido popularmente como o carrapato ferradura americano, o extrato obtido do *Tachypleus tridentatus*, carrapato japonês, também pode ser utilizado. Apesar dos extratos de ambos apresentarem um limite de detecção de 1 pg/mL, estudos mostram que o limiar de positividade do extrato de *T. tridentatus* apresenta-se 2,5 vezes maior em estudos.⁽⁵⁵⁾ Estudos realizados por Obayashi, em 1995,⁽⁵²⁾ recomendam um *cut-off* de 20 pg/mL para os ensaios que utilizam o extrato proveniente de *T. tridentatus*, e Senn et al.,⁽⁵⁶⁾ em 2008, por sua vez, sugeriram que um único resultado acima de 11 pg/mL ou dois resultados ≥7 pg/mL seriam suficientes para definir a positividade das amostras obtidas.

Por outro lado, recomenda-se que os ensaios que fazem uso do extrato de *L. polyphemus* utilizem um *cut-off* de 60 pg/mL, de acordo com pesquisa realizada por Odabasi et al.,⁽⁵⁵⁾ em 2004, ou de 80 pg/mL, conforme estudo publicado por Ostrosky-Zeichner et al.,⁽⁵⁷⁾ em 2005, reforçando os dados de maior limiar de positividade do extrato. Entretanto, apesar desses dados, o teste aprovado pelo FDA em 2004 utiliza o extrato do carrapato americano.

Os índices de sensibilidade e especificidade referentes à detecção de (1→3)-β-D-glucano apresentam-se controversos em diversos estudos. Da mesma forma que a galactomanana, tais resultados também se relacionam diretamente com o *cut-off* escolhido. No artigo de Pickering et al.,⁽⁵⁴⁾ em 2005, os índices de sensibilidade e especificidade foram de 92,9% e 100% com o *cut-off* de 80 pg/mL e de 97% e 93% com o *cut-off* de 60 pg/mL. Utilizando ainda o *cut-off* de 60 pg/mL, o estudo realizado por Odabasi et al.,⁽⁵⁵⁾ em 2004, mostrou resultados de sensibilidade e especificidade de 100% e 90% com uma amostra analisada e, quando duas amostras eram utilizadas, os índices resultantes foram de 65% e 96%. No estudo realizado por Obayashi,⁽⁵²⁾ em 1995, cujo *cut-off* utilizado foi de 20 pg/mL, os índices foram de 90% (sensibilidade) e 100% (especificidade). Com base em tais resultados, podemos concluir que a sensibilidade e especificidade do método tende a diminuir com o aumento do *cut-off* utilizado e com a análise de pelo menos duas amostras. Isso acaba por se tornar um empecilho, já que a análise de pelo menos duas amostras por semana é recomendada em razão da concentração de (1→3)-β-D-glucano se elevar de 60 pg/mL para mais de 360 pg/mL e de 90 pg/mL para 120 pg/mL no curso de cinco dias.⁽⁴⁹⁾

Já outros estudos relatam resultados não tão promissores, reportando valores de sensibilidade variantes entre 50% e 63%, resultados consideravelmente menores quando comparados a outros métodos como a PCR e o ELISA.^(49,58)

A concentração de (1→3)-β-D-glucano é dependente de múltiplos fatores relacionados ao hospedeiro e ao agente causador da infecção. As propriedades angioinvasivas do fungo e a estrutura e peso molecular do antígeno liberado interferem na sua detecção. Quanto aos fatores interferentes relacionados ao hospedeiro, destaca-se o nível de imunossupressão e invasão do patógeno, os órgãos envolvidos e a taxa de filtração glomerular do paciente, já que moléculas de (1→3)-β-D-glucano de baixo peso molecular são eliminadas por via renal. É interessante notar que moléculas maiores deste antígeno costumam ser retidas no fígado para serem posteriormente destruídas pelas células de Kupffer. Entretanto, é necessário atentar para a possibilidade do paciente apresentar disfunções hepáticas, levando a resultados repetidamente positivos mesmo após a cura da infecção fúngica.^(50,59-62)

Infelizmente, o aparecimento de resultados falso positivos também foi amplamente relatado durante a detecção de (1→3)-β-D-glucano, reduzindo a especificidade do teste. Pacientes que realizaram hemodiálise com a utilização de membranas derivadas de (1→3)-β-D-glucano e pacientes que fizeram uso de imunoglobulina intravenosa,^(63,64) albumina ou outros componentes sanguíneos comerciais⁽⁶⁵⁻⁶⁷⁾ apresentaram resultados falsamente positivos. Sabe-se que, durante a preparação destas soluções, utilizam-se filtros de celulose ricos em BDG.

A utilização de terapia antimicrobiana derivada de fontes fúngicas (incluindo colistina, ertapenem, cefazolina, trimetoprim-sulfametoxazol, cefotaxime, cefepime, ampicilina-sulbactam e amoxicilina e ácido clavulânico),^(68,69) a presença de bactérias Gram positivas na corrente sanguínea e a utilização de gaze em procedimentos cirúrgicos também parece ser fonte de (1→3)-β-D-glucano. Inclusive, no estudo realizado por Mohr et al., em 2005,⁽⁷⁰⁾ notou-se que pacientes que fizeram uso de gaze apresentaram resultados falso positivos para BDG nos primeiros três dias após a realização da cirurgia. É interessante ressaltar que a utilização dos antibióticos azitromicina e pentamidina inibem a detecção de (1→3)-β-D-glucano, levando ao aparecimento de resultados falso negativos.⁽⁶³⁾

O dano nas mucosas gastrointestinais em pacientes que realizaram sessões de quimio ou radioterapia também pode acabar levando à absorção de (1→3)-β-D-glucano por fontes alimentares ou acabar possibilitando a entrada de fungos patogênicos na corrente sanguínea.⁽⁵⁴⁾ Amostras excessivamente manipuladas também podem resultar em casos de contaminação.

Entretanto, uma característica interessante referente à cinética do BDG e que permite a diferenciação entre um resultado real e um resultado falso positivo é a súbita elevação e redução nos níveis de (1→3)-β-D-glucano em amostras falsamente positivas, ao passo que, em infecções invasivas reais, geralmente apresentam níveis com uma elevação contínua e não tão rápida.⁽⁴⁹⁾ Tal característica também refere-se a resultados falso positivos durante a análise de galactomanana.⁽⁷¹⁾

Sabendo que o valor de referência para um indivíduo normal é ≤ 10 pg/ml e que a análise dos índices de BDG tende a positivar mais rápido que outros antígenos como a galactomanana, a dosagem de (1→3)-β-D-glucano também pode ser utilizada na decisão de iniciar ou não a terapia antifúngica em pacientes que apresentam febre que não responde a antibióticos de amplo espectro. Sua utilização iria reduzir consideravelmente o uso de medicamentos potencialmente tóxicos em pacientes que não necessitam fazer uso deles.⁽⁵⁰⁾ Além disso, a detecção de BDG pode ser também utilizada no monitoramento da terapia antifúngica, correlacionando os seus índices com a efetividade do tratamento.⁽⁴⁹⁾

Métodos Moleculares

Um método diagnóstico que vem ocupando uma posição de crescente destaque em laboratórios de pesquisas médicas e biológicas é a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), na qual é possível detectar o DNA do agente causador da doença por meio da replicação *in vitro* de uma sequência alvo característica do microrganismo pesquisado.

Uma série de estudos vem sendo realizada recentemente com o objetivo de analisar a validade deste método no diagnóstico de infecções fúngicas invasivas, incluindo a aspergilose pulmonar invasiva. De acordo com os resultados, a técnica, além de ser rápida, barata e de fácil execução, apresenta resultados apreciáveis no que diz respeito aos índices de sensibilidade e especificidade, com um limite de detecção de 10 fg de DNA fúngico, correspondente a 1 a 10 células fúngicas por mL de sangue.⁽⁷²⁾ Entretanto, apesar de centenas de publicações já terem sido feitas a respeito da utilização da PCR como método diagnóstico da aspergilose pulmonar invasiva, esta técnica ainda não é considerada um método de rotina a ser seguido pelo fato de não possuir um procedimento comercial padronizado.⁽⁷³⁾ Recentemente foi criada uma fundação denominada EAPCRI (*European Aspergillus PCR Initiative*) com o objetivo de estabelecer e validar um padrão para a realização da PCR no diagnóstico das doenças causadas por fungos deste gênero.⁽⁷⁴⁾

A falta de padronização da técnica é atribuída principalmente à grande quantidade de alvos moleculares e amostras biológicas que podem ser utilizadas. Além disso, o tipo de plataforma molecular escolhida e as variações quanto aos métodos de extração e purificação das amostras também afetam diretamente a análise dos resultados obtidos. Tais fatores serão discutidos em seguida.⁽⁷⁵⁾

Variações de PCR

Inicialmente, as técnicas comumente utilizadas baseavam-se nas PCRs convencionais e na PCR-ELISA, mas, por motivos que incluíam o custo elevado e a demora na obtenção dos resultados (aproximadamente dois dias), seu uso acabou se tornando obsoleto.^(76,77) A PCR-*nested* é uma forma modificada da Reação em Cadeia da Polimerase e tem como objetivo principal a redução das amplificações de regiões não desejadas, algo que ocorre quando os *primers* se ligam em locais que não são a sequência alvo. Entretanto, apesar desta vantagem conferir maior especificidade, a técnica apresenta altos níveis de contaminação relacionados com a abertura dos tubos durante a adição do segundo par de *primers*.⁽¹³⁾ White et al.,⁽⁷⁴⁾ por sua vez, relatam que este problema pode ser resolvido pelo reprocessamento de todas as amostras positivas obtidas.

Atualmente, a técnica preferencialmente utilizada é a PCR em tempo real, que compreende uma amplificação

convencional de DNA acoplado a um mecanismo de detecção e quantificação por fluorescência. Nesta técnica, a detecção dos resultados é feita ao longo dos ciclos. Conforme a amplificação ocorre, ao final de cada ciclo é emitido um sinal fluorescente que é captado por um sistema óptico e convertido em um gráfico de amplificação.⁽⁷⁸⁾ Dentre as vantagens da PCR quantitativa em tempo real estão os altos níveis de sensibilidade, já que a técnica consegue detectar mínimas quantidades de material genético, menores taxas de contaminação e a possibilidade de analisar quantitativamente a presença de determinado material fúngico na amostra, sendo útil para monitorar o tratamento e distinguir uma colonização de uma infecção.⁽⁷⁹⁾ É necessário destacar que tal distinção não é possível quando a quantidade de DNA fúngico na amostra é pequena, como comumente ocorre em amostras de soro e sangue total.⁽⁸⁰⁾

Além destas, faz-se necessária a identificação do agente patológico em questão, já que determinadas espécies de *Aspergillus*, incluindo *A. terreus*, *A. flavus*, *A. lentulus* e *A. nidulans*, podem ser clinicamente resistentes à anfotericina B, não sendo este, portanto, o tratamento adequado a ser ministrado.⁽¹⁵⁾ Enzimas de restrição são amplamente empregadas na identificação de espécies em função de clivarem a molécula de DNA em pontos específicos, em reconhecimento a determinadas sequências de nucleotídeos. Como cada espécie produz fragmentos de DNA de tamanhos diferentes quando colocadas em contato com estas enzimas, a sua diferenciação e identificação pode ser facilmente visualizada na detecção por eletroforese.

Técnicas baseadas em *microarrays* pan-fúngicos também representam um panorama futuro promissor na detecção e identificação de agentes causadores de infecções invasivas.⁽¹³⁾

Alvo molecular

A seleção de um alvo molecular ideal para a amplificação é outra peça fundamental para a padronização da PCR. O DNA é preferencialmente escolhido em razão de ser mais facilmente extraído e possuir maior estabilidade quando comparado ao RNA.⁽⁸¹⁾

Os alvos moleculares mais comumente utilizados baseiam-se nos complexos de DNA ribossômico e mitocondrial, pelo fato de apresentarem múltiplas cópias ao longo do genoma: 35 e 12, respectivamente.⁽⁷³⁾ Como o DNA ribossômico apresenta um número de cópias três vezes maior, justifica-se a melhor sensibilidade obtida em amostras de baixa concentração pela amplificação de alvos ribossômicos na pesquisa realizada por Millon et al., em 2011.⁽⁷³⁾ O mesmo estudo demonstrou que quantidades de DNA significativamente menores eram detectadas com a utilização de alvos ribossômicos quando ambas as amplificações eram realizadas em amostras positivas.

É importante destacar que, dentre as regiões gênicas do DNAr que podem ser amplificadas, o gene pertencente à subunidade maior do ribossomo (28S) foi considerado mais específico que o gene referente à subunidade menor do ribossomo (18S), já que os *primers* utilizados na amplificação deste gene acabaram amplificando uma porção do DNA ribossômico humano na ausência de DNA de *A. fumigatus*.⁽⁸²⁾

Por outro lado, Millon et al.,⁽⁷³⁾ em 2011, também mostraram que amplificações de regiões ribossômicas apresentavam alta especificidade na detecção de *Aspergillus fumigatus*, enquanto que outras espécies do gênero *Aspergillus* eram mais facilmente detectadas quando o alvo mitocondrial era utilizado. Tal descoberta é de fundamental relevância clínica uma vez que, apesar de *A. fumigatus* ser o principal agente causador da API, outras espécies também vêm sendo identificadas como agentes causadores desta patologia.

Logo, por aumentar a sensibilidade do método, recomenda-se a amplificação concomitante de alvos ribossômicos e mitocondriais quando existe a suspeita de aspergilose invasiva.

Outro fator que também deve ser levado em consideração quanto à especificidade da técnica é a escolha dos *primers*. O sequenciamento do amplicon é essencial para a confirmação da amplificação do alvo correto.⁽⁸³⁾ Além disso, em razão das novas sequências gênicas que vêm sendo constantemente descobertas e publicadas, é de fundamental importância verificar com frequência se os *primers* utilizados irão porventura se alinhar com o gene de alguma nova espécie sequenciada.

Amostra utilizada

Diversas amostras biológicas podem ser utilizadas na investigação de infecções fúngicas, mas, para o diagnóstico precoce da IPA, as amostras de sangue e LBA parecem apresentar resultados mais promissores.⁽⁸⁴⁾ Pelo fato das vias aéreas serem os locais primeiramente afetados, as amostras de LBA apresentam uma sensibilidade consideravelmente maior quando comparada às amostras sanguíneas. Entretanto, estudos mostram que esta amostra apresenta índices de falsa positividade que variam de 10% a 25%, comprometendo dessa forma a especificidade do método. Este alto índice se deve à incapacidade de distinção entre casos de infecções reais e casos de colonização das vias aéreas ou contaminação por conídios de *Aspergillus* dispersos pelo ar.

Levando em consideração este fator, a análise de amostras sanguíneas pode ser potencialmente mais específica, já que a colonização do sangue por conídios é improvável e a contaminação da amostra pode ser evitada pela manipulação da amostra sob condições controladas.⁽⁸⁵⁾

Outra questão de debate pertinente a este assunto se refere à fração do sangue que deve ser utilizada para a realização do método. Costa et al.,⁽⁸⁶⁾ em 2002, relataram que amostras de soro, plasma e sangue total apresentaram sensibilidade semelhante, enquanto que outro estudo⁽⁸⁷⁾ descreveu melhores resultados para amostras de sangue total. A utilização de leucócitos também constitui uma amostra válida para a pesquisa de DNA fúngico embora não seja considerada a mais adequada. Tal desvantagem se deve ao fato de pacientes suscetíveis ao desenvolvimento de IPA geralmente se apresentarem neutropênicos.^(88,89) Acredita-se que, dentre todas as frações, o soro constitui a amostra de escolha por razões práticas que incluem tanto a reutilização da amostra para a realização de outros métodos como a pesquisa de antígenos, o fácil armazenamento e conservação e a ausência de anticoagulantes, como o EDTA, presentes no sangue total, que podem acabar inibindo a PCR.^(73,90)

Amostras como o líquido e tecidos obtidos por biópsias, incluindo amostras incluídas em parafina, também podem ser utilizadas na pesquisa de DNA fúngico. Entretanto, em razão da trombocitopenia dos pacientes e do consequente risco de sangramento, a obtenção de tais amostras por meio de procedimentos invasivos acaba sendo não recomendada.⁽⁹¹⁾ Embora a sua obtenção não seja por meio de procedimentos tão invasivos, as amostras de LBA também acabam não sendo recomendadas pelas mesmas razões.⁽⁹²⁾ Em contraste, a obtenção de sangue é relativamente simples e não invasiva, sendo portanto considerada a amostra de escolha.⁽⁹³⁾

Resultados falso positivos/negativos

A obtenção de resultados falso positivos é um problema comum em razão da já comentada colonização de sítios biológicos por *Aspergillus*. A contaminação das amostras biológicas também pode ocorrer em diversas etapas do processamento das mesmas, podendo ser evitada por meio de coleta sob condições assépticas e manuseio da amostra em cabines de fluxo laminar. O risco de contaminação também pode ser reduzido por meio da extração e purificação do DNA em sistemas fechados.⁽⁹¹⁾

Outro ponto crucial na geração de falsos resultados positivos é a contaminação dos reagentes utilizados com hifas, esporos e DNA fúngico. Esta contaminação pode ser revertida por meio de filtração estéril⁽⁹¹⁾ e irradiação dos reagentes com luz UV por oito horas,⁽⁸⁵⁾ com posterior análise dos reagentes purificados e inclusão de controles negativos (água ou sangue de indivíduos saudáveis) durante a realização do método.

É importante destacar que, para se definir a real positividade de um resultado, recomenda-se a análise e obtenção de duas amostras biológicas com resultados positivos.⁽⁹⁴⁾

Além disso, em razão do crescente número de espécies causadoras de infecções fúngicas invasivas, não se

recomenda a escolha de *primers* que amplifiquem sequências espécies-específicas em razão de aumentar a chance de resultados falsamente negativos.⁽⁹⁵⁾ Por outro lado, a escolha de *primers* que amplificam uma gama ampla de patógenos fúngicos pode acabar levando à obtenção de falsos resultados positivos, já que alguns se apresentam homólogos a alguns genes humanos.⁽⁹⁶⁾

A redução na sensibilidade da PCR e consequente geração de resultados falso-negativos também foi relatada em pacientes que fazem uso de terapia antifúngica. Tais resultados também podem resultar do uso de um variado espectro de fluidos e medicamentos pelo paciente, já que muitos deles podem acabar inibindo as reações de amplificação. Nestes casos, é essencial a adição de um controle positivo durante a realização da PCR a fim de manter a eficiência da técnica e detectar a presença de inibidores e um controle negativo para detectar possíveis contaminações.^(13,75)

Extração e purificação

É de fundamental importância que a técnica utilizada na extração do material genômico do fungo seja eficiente, livre de contaminação exógena e aplicável à rotina do laboratório.⁽¹³⁾ Pesquisas realizadas pela EAPCRI relatam que a extração é o maior obstáculo dentre todos os passos da técnica e que, durante a extração, a etapa mais crítica seria o rompimento da parede celular do fungo. Este rompimento pode ser realizado tanto por métodos físicos (utilizando microesferas de vidro) quanto por métodos enzimáticos ou pela combinação de ambos. As mesmas pesquisas relatam que a utilização de esferas de vidro mostrou resultados mais satisfatórios quanto à quantidade de material genético extraído.⁽⁷⁴⁾ Além disso, dá-se preferência às técnicas de extração por meio automatizado ou por *kits* comerciais, já que, além de serem padronizados, apresentam menor risco de contaminação.

A extração de DNA revelou-se menos complexa quando realizada em amostras de plasma ou soro, uma vez que o material genético encontra-se livre em solução. A quantidade de amostra que deve ser utilizada na análise ainda é alvo de estudos, variando de 100 µL a 10 mL.^(94,97) Entretanto, maiores volumes (> 3 mL) apresentam maior sensibilidade, uma vez que, em amostras como o sangue periférico, por exemplo, a carga de fungos é muito baixa e pode variar de < 10 UFC/mL a até algumas centenas de UFC/mL, quantidade raramente observada.⁽⁹⁸⁾

A purificação do DNA extraído geralmente é feita manualmente com a utilização de fenol-clorofórmio ou por meio de *kits* comerciais.

Aspectos gerais

Os índices de sensibilidade e especificidade da PCR não apresentam valores definidos e variam consideravelmente.

mente de acordo com os fatores mencionados acima, sobretudo quando relacionados às amostras analisadas e à técnica utilizada. No estudo apresentado por Kawazu et al.,⁽⁹⁹⁾ em 2004, a especificidade da PCR foi de 55%, ao passo que Buchheidt et al.⁽⁸⁴⁾ relataram índices de especificidade superiores a 90%. Nota-se, entretanto, que os índices de sensibilidade do método apresentam grande estabilidade, geralmente girando em torno de 100%.

Em razão de possuir alta sensibilidade, além de seu uso no diagnóstico da API, a PCR também pode ser utilizada no monitoramento de pacientes que apresentam chances de desenvolver a doença com o objetivo de evitar o uso desnecessário de antifúngicos em caso de resultados negativos ou iniciar rapidamente a terapia em caso positivo. Entretanto, é necessária cautela e experiência na interpretação dos resultados; um resultado negativo não pode excluir o diagnóstico de API assim como um resultado positivo não representa um diagnóstico definitivo.

Além disso, a quantificação da carga fúngica por meio da PCR em tempo real pode também ser útil no monitoramento do tratamento antifúngico. Resultados decrescentes ou negativos indicam uma boa resposta terapêutica, ao passo que índices repetidamente estáveis ou crescentes se correlacionam com um mau prognóstico, indicando a necessidade da troca da medicação.⁽¹⁰⁰⁾

Em suma, a PCR representa um método viável, não invasivo e rápido, apresentando resultados em cerca de 24 horas⁽²³⁾ ou menos em casos de urgência. Entretanto, apesar das numerosas vantagens, a falta de padronização do método impede sua utilização rotineira no diagnóstico da API.

DISCUSSÃO

Sabe-se que, apesar da detecção precoce da aspergilose invasiva e do pronto início do tratamento serem fatores fundamentais ao bom prognóstico da doença, a AI continua sendo uma frequente causa de morte em pacientes imunocomprometidos em razão do difícil diagnóstico laboratorial e das técnicas convencionalmente utilizadas apresentarem baixa sensibilidade analítica e demora na apresentação dos resultados. Com base nisso, o desenvolvimento de técnicas rápidas e não invasivas, como a detecção de biomarcadores celulares e DNA fúngico, vêm ganhando cada vez mais espaço dentre os métodos diagnósticos utilizados em razão de detectarem evidências sugestivas de AI antes do aparecimento de sinais e sintomas clínicos.

É interessante destacar que o uso concomitante dos métodos apresenta melhor validade diagnóstica em relação à sua performance individual. O estudo de Cuenca-Estrella et al.,⁽⁸⁰⁾ em 2009, por exemplo, relata que a combinação de resultados positivos de PCR e GM culminou no diagnóstico preciso de 95,2% dos casos. A galactomanana

possui melhores índices de sensibilidade⁽⁸⁶⁾ e uma técnica menos complexa, e sua baixa especificidade pode ser compensada pela realização da PCR,⁽⁸⁵⁾ que amplifica fragmentos específicos do material genômico do patógeno em questão. Além disso, a especificidade dos dois métodos eleva-se em razão de dois diferentes alvos do mesmo microrganismo estarem sendo investigados.⁽¹⁰¹⁾

O uso de tais métodos em parceria com a detecção de (1→3)-β-D-glucano (BG) também apresenta resultados satisfatórios, já que o BD tende a positivar mais rapidamente que a galactomanana, embora apresente índices de sensibilidade duvidosos. Além de aumentar a probabilidade de confirmação da existência da AI, já que não só um, mas três testes estão sendo testados, outra vantagem relacionada à realização concomitante de ambos os métodos é que, apesar de diversos fatores contribuírem para o aparecimento de resultados falsamente positivos, tais resultados podem ser facilmente detectados quando um dos testes apresenta resultados discrepantes. Além disso, em casos falso positivos, tanto a galactomanana quanto o (1→3)-β-D-glucano apresentam características cinéticas peculiares durante a elevação de seus índices (resultados falso positivos tendem a mostrar elevações súbitas e drásticas, ao contrário de reais infecções).

Outra peculiaridade relacionada ao BD é a negatividade de seus índices em infecções não sistêmicas e baixos resultados em casos de colonização, contribuindo para a diminuição de casos falso positivos. Além disso, apesar de não ser considerado um método específico em razão de detectar a presença de variantes espécies de fungos patogênicos, tal característica pode ser relevante na descoberta de outros tipos de infecções fúngicas. É interessante notar que o diagnóstico diferencial de micoses sistêmicas (incluindo as causadas por *Candida* e *Aspergillus*) pode ser facilmente realizado com base em achado clínicos e radiológicos.

A combinação de ambos os biomarcadores apresenta vantagens consideráveis, mas acredita-se que a exclusão definitiva de resultados falsamente positivos só seja possível com a realização de métodos mais específicos, como a PCR; sua realização é inclusive recomendada após a positividade da GM e BD. Entretanto, apesar de fornecer resultados indubitavelmente mais completos, possibilitando a quantificação da carga fúngica e a identificação do patógeno, os métodos moleculares apresentam uma série de fatores limitantes, incluindo o custo elevado quando comparado a outros métodos e a complexidade em sua realização. Além disso, a PCR não permite diferenciar uma real infecção de possíveis contaminações ou colonizações fúngicas quando a quantidade de DNA fúngico na amostra é pequena.

A falta de padronização das técnicas moleculares também acaba limitando sua utilização no diagnóstico da AI,

já que a diversidade de formatos de PCR, amostras biológicas, alvos moleculares e procedimentos de extração e purificação acaba dificultando a correta comparação deste método e adie a escolha do melhor protocolo a ser seguido. Entretanto, com a criação da *European Aspergillus PCR Initiative* (EAPCRI), em 2006, a padronização da PCR para detecção do *Aspergillus* encontra-se em estágio iminente.

Apesar destes três métodos serem importantes ferramentas diagnósticas e possibilitarem a decisão acerca da possibilidade de tratamento e o monitoramento terapêutico durante o curso da AI, a importância da integração de dados clínicos, radiológicos e microbiológicos não pode ser desconsiderada, já que desempenham papel fundamental na detecção e avaliação do caráter evolutivo da doença. Recomenda-se que a obtenção de resultados positivos por meio das técnicas discutidas seja seguida pela realização de métodos diagnósticos adicionais, como métodos radiológicos avançados. Outra estratégia diagnóstica que pode ser empregada baseia-se na utilização da PCR e galactomanana (acompanhada ou não de BG) com finalidade confirmatória, sendo realizadas somente após o aparecimento de evidências clínicas e radiológicas que sejam sugestivas de AI.⁽¹³⁾

A análise da relação custo-benefício também deve ser levada em conta antes de incorporar estes métodos na rotina de um laboratório. Em razão do custo elevado e da complexidade das técnicas, tais testes geralmente acabam sendo realizados somente em laboratórios de referência ou hospitais especializados em transplantes ou casos de malignidades hematológicas.

CONCLUSÃO

Apesar de suas limitações, o uso de técnicas moleculares e a detecção de antígenos fúngicos contribuem amplamente na detecção da aspergilose invasiva. Para possibilitar uma melhor avaliação do caso, recomenda-se que seu uso seja combinado com a avaliação clínica, radiológica e microbiológica do paciente e não utilizado de forma a substituí-los. Entretanto, é necessário destacar que, apesar de seu valor diagnóstico, sobretudo quando utilizados em conjunto, um resultado negativo não pode excluir o diagnóstico e um resultado positivo não representa um diagnóstico absoluto de AI. Por esse motivo, a realização de estudos futuros é de fundamental importância para a padronização de tais métodos, possibilitando o diagnóstico rápido e eficaz desta doença.

Abstract

The fungi of the genus Aspergillus are a major cause of opportunistic infections in immunosuppressed patients. Among the pulmonary manifestations that may be caused by Aspergillus, the most serious is undoubtedly the invasive pulmonary aspergillosis (API), an infection that has shown a significant increase in their frequency in recent years. Taking

into account the patient's immunosuppression and difficulty of clinical diagnosis, the API provides a very guarded prognosis and may even lead to death. In order to increase the chances of patient recovery, a constant search for tests that may indicate early presence of Aspergillus sp. in the patient has been performed. One of the latest advances in the diagnosis of IPA is related to the detection of the causative agent by performing molecular methods (PCR) and with the detection of Aspergillus antigens in body fluids with special emphasis on galactomannan and (13)- β -D-glucan. Though they look promising, these methods are not routinely used and there are few conclusive studies regarding its use. The purpose of this work is to evaluate impartially the advantages and disadvantages of their use, as well as their individual and combined performance.

Keywords

Invasive pulmonary aspergillosis; Diagnosis; Molecular diagnostic techniques; Antigens, Fungal

REFERÊNCIAS

1. Novaretti MCZ, Ruiz AS, Dulley FL, Dorhac-Llacer PE, Chamone DAF. Detecção de *Aspergillus* sp. pela técnica de PCR-nested em pacientes submetidos a transplante de medula óssea. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* São José do Rio Preto. 2008;30(2):162-3.
2. Perfect JR, Cox GM, Lee JY, Kauffman CA, de Repentigny L, Chapman SW, et al. The impact of culture isolation of *Aspergillus* species: A hospital-based survey of aspergillosis. *Clin Infect Dis.* 2001 Dec 1;33(11):1824-33.
3. Walsh TJ, Groll AH. Overview: non-fumigatus species of *Aspergillus*: perspectives on emerging pathogens in immunocompromised hosts. *Curr Opin Investig Drugs.* 2001 Oct;2(10):1366-7.
4. Brodoefel H, Vogel M, Hebart H, Einsele H, Vonthein R, Claussen C, et al. Long-term CT follow-up in 40 non-HIV immunocompromised patients with invasive pulmonary aspergillosis: kinetics of CT morphology and correlation with clinical findings and outcome. *AJR Am J Roentgenol.* 2006;187(8):404-13.
5. Hauggaard A, Ellis M, Ekelund L. Early chest radiography and CT in the diagnosis, management and outcome of invasive pulmonary aspergillosis. *Acta Radiol.* 2002 May;43(3):292-8.
6. Denning DW, Stevens DA. Antifungal and surgical treatment of invasive aspergillosis: review of 2,121 published cases. *Rev Infect Dis.* 1990 Nov-Dec;12(6):1147-201. Erratum in *Rev Infect Dis* 1991 Mar-Apr;13(2):345.
7. Baddley JW, Stroud TP, Salzman D, Pappas PG. Invasive mold infections in allogeneic bone marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2001 May 1;32(9):1319-24.
8. Bruno C, Minniti S, Vassanelli A, Pozzi-Mucelli R. Comparison of CT features of *Aspergillus* and bacterial pneumonia in severely neutropenic patients. *J Thorac Imaging.* 2007 May;22(2):160-5.
9. Denning DW. Therapeutic outcome in invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis.* 1996 Sep;23(3):608-15.
10. Lin SJ1, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. *Clin Infect Dis.* 2001 Feb 1;32(3):358-66.
11. Skladny H, Buchheidt D, Baust C, Krieg-Schneider F, Seifarth W, Leib-Mösch C, et al. Specific detection of *Aspergillus* species in blood and bronchoalveolar lavage samples of immunocompromised patients by two-step PCR. *J Clin Microbiol.* 1999 Dec;37(12):3865-71.
12. Ruhnke M, Böhme A, Buchheidt D, Donhuijsen K, Einsele H, Enzensberger R, et al; Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). Diagnosis of invasive fungal infections in hematology and oncology - guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). *Ann Hematol.* 2003 Oct;82 Suppl 2:S141-8.
13. Hope WW, Walsh TJ, Denning DW. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis.* 2005 Oct;5(10):609-22

14. Ascioğlu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crockaert F, et al; Invasive Fungal Infections Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer; Mycoses Study Group of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis*. 2002 Jan 1;34(1):7-14.
15. Walsh TJ, Petraitis V, Petraitiene R, Field-Ridley A, Sutton D, Ghannoum M, et al. Experimental pulmonary aspergillosis due to *Aspergillus terreus*: pathogenesis and treatment of an emerging fungal pathogen resistant to amphotericin B. *J Infect Dis*. 2003 Jul 15;188(2):305-19.
16. Kami M, Fukui T, Ogawa S, Kazuyama Y, Machida U, Tanaka Y, et al. Use of real-time PCR on blood samples for diagnosis of invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis*. 2001 Nov 1;33(9):1504-12.
17. Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis*. 2004 Jun;4(6):349-57.
18. Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2006 May 15;42(10):1417-27.
19. Tănase AD, Coliță A, Mărculescu A, Berteanu C, Streinu Cercel A, Stoica M, et al. Using the galactomannan antigen assay in the diagnosis of invasive aspergillosis after hematopoietic stem cell transplantation. *Rom J Morphol Embryol*. 2012;53(2):379-82.
20. Woods G, Miceli MH, Graziutti ML, Zhao W, Barlogie B, Anaissie E. Serum *Aspergillus* galactomannan antigen values strongly correlate with outcome of invasive aspergillosis: a study of 56 patients with hematologic cancer. *Cancer*. 2007 Aug 15;110(4):830-4.
21. Hsu LY, Ding Y, Phua J, Koh LP, Chan DS, Khoo KL, et al. Galactomannan testing of bronchoalveolar lavage fluid is useful for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in hematology patients. *BMC Infect Dis*. 2010 Mar 3;10:44.
22. Sidrim JJC, Rocha MFG. *Micologia médica à luz de autores contemporâneos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. XVI, 388 p.
23. Verweij PE, Latgé JP, Rijs AJ, Melchers WJ, De Pauw BE, Hoogkamp-Korstanje JA, et al. Comparison of antigen detection and PCR assay using bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive pulmonary aspergillosis in patients receiving treatment for hematological malignancies. *J Clin Microbiol*. 1995 Dec;33(12):3150-3.
24. Pasmans HL, Loosveld OJ, Schouten HC, Thunnissen F, van Engelshoven JM. Invasive aspergillosis in immunocompromised patients: findings on plain film and (HR)CT. *Eur J Radiol*. 1992 Jan-Feb;14(1):37-40.
25. Hope WW, Kruhlak MJ, Lyman CA, Petraitiene R, Petraitis V, Francesconi A, et al. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* and the kinetics of galactomannan in an in vitro model of early invasive pulmonary aspergillosis: implications for antifungal therapy. *J Infect Dis*. 2007 Feb 1;195(3):455-66.
26. Wheat LJ. Rapid diagnosis of invasive aspergillosis by antigen detection. *Transpl Infect Dis*. 2003 Dec;5(4):158-66.
27. Latgé JP, Kobayashi H, Debeauvais JP, Diaquin M, Sarfati J, Wieruszkeski JM, et al. Chemical and immunological characterization of the extracellular galactomannan of *Aspergillus fumigatus*. *Infect Immun*. 1994 Dec;62(12):5424-33.
28. Becker MJ, Lugtenburg EJ, Cornelissen JJ, Van Der Schee C, Hoogsteden HC, De Marie S. Galactomannan detection in computerized tomography-based bronchoalveolar lavage fluid and serum in haematological patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis. *Br J Haematol*. 2003 May;121(3):448-57.
29. Verweij PE, Weemaes CM, Curfs JH, Bretagne S, Meis JF. Failure to detect circulating *Aspergillus* markers in a patient with chronic granulomatous disease and invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2000 Oct;38(10):3900-1.
30. Wheat LJ. Galactomannan antigenemia detection for diagnosis of invasive aspergillosis. Part II. *Clin Microbiol News*. 2005;27(8):59-63.
31. Maertens J, Verhaegen J, Demuyneck H, Brock P, Verhoef G, Vandenberghe P, et al. Autopsy-controlled prospective evaluation of serial screening for circulating galactomannan by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for hematological patients at risk for invasive Aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 1999 Oct;37(10):3223-8.
32. Maertens J, Van Eldere J, Verhaegen J, Verbeken E, Verschakelen J, Boogaerts M. Use of circulating galactomannan screening for early diagnosis of invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients. *J Infect Dis*. 2002 Nov 1;186(9):1297-306.
33. Nguyen MH, Jaber R, Leather HL, Wingard JR, Staley B, Wheat LJ, et al. Use of bronchoalveolar lavage to detect galactomannan for diagnosis of pulmonary aspergillosis among nonimmunocompromised hosts. *J Clin Microbiol*. 2007 Sep;45(9):2787-92.
34. Herbrecht R, Letscher-Bru V, Oprea C, Lioure B, Waller J, Campos F, et al. *Aspergillus* galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients. *J Clin Oncol*. 2002 Apr 1;20(7):1898-906.
35. Maertens J, Theunissen K, Verbeken E, Lagrou K, Verhaegen J, Boogaerts M, et al. Prospective clinical evaluation of lower cut-offs for galactomannan detection in adult neutropenic cancer patients and haematological stem cell transplant recipients. *Br J Haematol*. 2004 Sep;126(6):852-60.
36. Husain S, Paterson DL, Studer SM, Crespo M, Pilewski J, Durkin M, et al. *Aspergillus* galactomannan antigen in the bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of invasive aspergillosis in lung transplant recipients. *Transplantation*. 2007 May 27;83(10):1330-6.
37. Aubry A, Porcher R, Bottero J, Touratier S, Leblanc T, Brethon B, et al. Occurrence and kinetics of false-positive *Aspergillus* galactomannan test results following treatment with beta-lactam antibiotics in patients with hematological disorders. *J Clin Microbiol*. 2006 Feb;44(2):389-94.
38. Walsh TJ, Shoham S, Petraitiene R, Sein T, Schaufele R, Kelaher A, et al. Detection of galactomannan antigenemia in patients receiving piperacillin-tazobactam and correlations between in vitro, in vivo, and clinical properties of the drug-antigen interaction. *J Clin Microbiol*. 2004 Oct;42(10):4744-8.
39. Singh N, Obman A, Husain S, Aspinall S, Mietzner S, Stout JE. Reactivity of platelia *Aspergillus* galactomannan antigen with piperacillin-tazobactam: clinical implications based on achievable concentrations in serum. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Jun;48(6):1989-92.
40. Hashiguchi K, Niki Y, Soejima R. Cyclophosphamide induces false-positive results in detection of *Aspergillus* antigen in urine. *Chest*. 1994 Mar;105(3):975-6.
41. Mennink-Kersten MA, Klont RR, Warris A, Op den Camp HJ, Verweij PE. Bifidobacterium lipoteichoic acid and false ELISA reactivity in *Aspergillus* antigen detection. *Lancet*. 2004 Jan 24;363(9405):325-7.
42. Siemann M1, Koch-Dörfler M, Gaude M. False-positive results in premature infants with the Platelia *Aspergillus* sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *Mycoses*. 1998 Nov;41(9-10):373-7.
43. Girmenia C, Ballarò D, Martino P. Contamination by cardboard particles as a cause of false-positive results for *Aspergillus* galactomannan enzyme immunoassays. *Clin Vaccine Immunol*. 2007 Jul;14(7):929.
44. Murashige N, Kami M, Kishi Y, Fujisaki G, Tanosaki R. False-positive results of *Aspergillus* enzyme-linked immunosorbent assays for a patient with gastrointestinal graft-versus-host disease taking a nutrient containing soybean protein. *Clin Infect Dis*. 2005 Jan 15;40(2):333-4.
45. Petraitiene R, Petraitis V, Groll AH, Sein T, Piscitelli S, Candelario M, et al. Antifungal activity and pharmacokinetics of posaconazole (SCH 56592) in treatment and prevention of experimental invasive pulmonary aspergillosis: correlation with galactomannan antigenemia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Mar;45(3):857-69.

46. Marr KA, Balajee SA, McLaughlin L, Tabouret M, Bentsen C, Walsh TJ. Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis: variables that affect performance. *J Infect Dis*. 2004 Aug 1;190(3):641-9.
47. Stynen D, Goris A, Sarfati J, Latgé JP. A new sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to detect galactofuran in patients with invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 1995 Feb;33(2):497-500.
48. Young S-H, Castranova V, editors. *Toxicology of 1-3-beta-Glucans: Glucans as a Marker for Fungal Exposure*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis; 2005. p. 179-197.
49. Pazos C, Pontón J, Del Palacio A. Contribution of (1->3)-beta-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan. *J Clin Microbiol*. 2005 Jan;43(1):299-305.
50. Yoshida M. Usefulness of determination of β -D-glucan in the diagnosis of deep mycosis - experience in Japan. *Med Mycol* 2006;44:185-9.
51. Mori T, Ikemoto H, Matsumura M, Yoshida M, Inada K, Endo S, et al. Evaluation of plasma (1->3)-beta-D-glucan measurement by the kinetic turbidimetric Limulus test, for the clinical diagnosis of mycotic infections. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1997 Jul;35(7):553-60.
52. Obayashi T, Yoshida M, Mori T, Goto H, Yasuoka A, Iwasaki H, et al. Plasma (1->3)-beta-D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *Lancet*. 1995 Jan 7;345(8941):17-20.
53. Obayashi T, Tamura H, Tanaka S, Ohki M, Takahashi S, Arai M, et al. A new chromogenic endotoxin-specific assay using recombinant limulus coagulation enzymes and its clinical applications. *Clin Chim Acta*. 1985 Jun 30;149(1):55-65.
54. Pickering JW, Sant HW, Bowles CA, Roberts WL, Woods GL. Evaluation of a (1->3)-beta-D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. *J Clin Microbiol*. 2005 Dec;43(12):5957-62.
55. Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, Kantarjian H, Saeki F, Ridge RJ, et al. Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clin Infect Dis*. 2004 Jul 15;39(2):199-205.
56. Senn L, Robinson JO, Schmidt S, Knaup M, Asahi N, Satomura S, Matsuura S, et al. 1,3-Beta-D-glucan antigenemia for early diagnosis of invasive fungal infections in neutropenic patients with acute leukemia. *Clin Infect Dis*. 2008 Mar 15;46(6):878-85.
57. Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vazquez J, Pappas PG, Saeki F, et al. Multicenter clinical evaluation of the (1->3)-beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis*. 2005 Sep 1;41(5):654-9.
58. Badiee P, Alborzi A, Karimi M, Pourabbas B, Haddadi P, Mardaneh J, et al. Diagnostic potential of nested PCR, galactomannan EIA, and beta-D-glucan for invasive aspergillosis in pediatric patients. *J Infect Dev Ctries*. 2012 Apr 13;6(4):352-7.
59. Marty FM, Koo S. Role of (1->3)-beta-D-glucan in the diagnosis of invasive aspergillosis. *Med Mycol*. 2009;47 Suppl 1:S233-40.
60. Brown GD, Gordon S. Fungal beta-glucans and mammalian immunity. *Immunity*. 2003 Sep;19(3):311-5.
61. Marty FM, Rubin RH. The prevention of infection post-transplant: the role of prophylaxis, preemptive and empiric therapy. *Transpl Int*. 2006 Jan;19(1):2-11.
62. Suda M, Ohno N, Hashimoto T, Koizumi K, Adachi Y, Yadomae T. Kupffer cells play important roles in the metabolic degradation of a soluble anti-tumor (1->3) beta-D-glucan, SSG, in mice. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1996 Sep;15(2-3):93-100.
63. Ikemura K, Ikegami K, Shimazu T, Yoshioka T, Sugimoto T. False-positive result in Limulus test caused by Limulus amoebocyte lysate-reactive material in immunoglobulin products. *J Clin Microbiol*. 1989 Sep;27(9):1965-8.
64. Ogawa M, Hori H, Niiguchi S, Azuma E, Komada Y. False-positive plasma (1->3) beta-D-glucan test following immunoglobulin product replacement in an adult bone marrow recipient. *Int J Hematol*. 2004 Jul;80(1):97-8.
65. Usami M, Ohata A, Horiuchi T, Nagasawa K, Wakabayashi T, Tanaka S. Positive (1->3)-beta-D-glucan in blood components and release of (1->3)-beta-D-glucan from depth-type membrane filters for blood processing. *Transfusion*. 2002 Sep;42(9):1189-95.
66. Nagasawa K, Yano T, Kitabayashi G, Morimoto H, Yamada Y, Ohata A, et al. Experimental proof of contamination of blood components by (1->3)-beta-D-glucan caused by filtration with cellulose filters in the manufacturing process. *J Artif Organs*. 2003;6(1):49-54.
67. Ohata A, Usami M, Horiuchi T, Nagasawa K, Kinoshita K. Release of (1->3)-beta-D-glucan from depth-type membrane filters and their in vitro effects on pro inflammatory cytokine production. *Artif Organs*. 2003 Aug;27(8):728-3.
68. Marty FM, Lowry CM, Lempitski SJ, Kubiak DW, Finkelman MA, Baden LR. Reactivity of (1->3)-beta-D-glucan assay with commonly used intravenous antimicrobials. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Oct;50(10):3450-3.
69. Mennink-Kersten MA, Warris A, Verweij PE. 1,3-beta-D-glucanin patients receiving intravenous amoxicillin-clavulanic acid. *N Engl J Med*. 2006 Jun 29;354(26):2834-5.
70. Mohr J, Paetznick VL, Rodriguez JR. A prospective pilot survey of B-glucan (BG) seropositivity and its relationship to invasive candidiasis (IC) in the surgical ICU (SICU) (Abstract M-168). 45th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents & Chemotherapy; 2005; Washington, DC.
71. Swanink CM, Meis JF, Rijs AJ, Donnelly JP, Verweij PE. Specificity of a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for detecting *Aspergillus galactomannan*. *J Clin Microbiol*. 1997 Jan;35(1):257-60.
72. Einsele H, Hebart H, Roller G, Löffler J, Rothenhofer I, Müller CA, et al. Detection and identification of fungal pathogens in blood by using molecular probes. *J Clin Microbiol*. 1997 Jun;35(6):1353-60.
73. Millon L, Grenouillet F, Legrand F, Loewert S, Bellanger AP, Gbaguidi-Haore H, et al. Ribosomal and mitochondrial DNA target for real-time PCR diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2011 Mar;49(3):1058-63.
74. White PL, Bretagne S, Klingspor L, Melchers WJ, McCulloch E, Schulz B, et al. European *Aspergillus* PCR Initiative. *Aspergillus* PCR: one step closer to standardization. *J Clin Microbiol*. 2010 Apr;48(4):1231-4.
75. Duval SM, Donnelly JP, Barnes R, Löffler J. PCR- Based methods with aspergillosis as a model. *J Invasive Fungal Infect* 2008; 2(2):46-51.
76. Löffler J, Hebart H, Sepe S, Schumcher U, Klingebiel T, Einsele H. Detection of PCR-amplified fungal DNA by using a PCR-ELISA system. *Med Mycol*. 1998 Oct;36(5):275-9.
77. Badiee P, Kordbacheh P, Alborzi A, Malekhoseini S, Zeini F, Mirhendi H, et al. Prospective screening in liver transplant recipients by panfungal PCR-ELISA for early diagnosis of invasive fungal infections. *Liver Transpl*. 2007 Jul;13(7):1011-6.
78. Saunders NA. Real-time PCR. *Methods Mol Biol*. 2004;266:191-211.
79. Khot PD, Ko DL, Hackman RC, Fredricks DN. Development and optimization of quantitative PCR for the diagnosis of invasive aspergillosis with bronchoalveolar lavage fluid. *BMC Infect Dis*. 2008 May 29;8:73
80. Cuenca-Estrella M, Meije Y, Diaz-Pedroche C, Gomez-Lopez A, Buitrago MJ, Bernal-Martinez L, et al. Value of serial quantification of fungal DNA by a real-time PCR-based technique for early diagnosis of invasive *Aspergillus* in patients with febrile neutropenia. *J Clin Microbiol*. 2009 Feb;47(2):379-84.
81. Duval SM, Rogers T, Loeffler J. Update on polymerase chain reaction for invasive aspergillosis. *Current Fungal Infection Reports*. 2007;1:121-8.

82. Maertens J, Theunissen K, Verhoef G, Verschakelen J, Lagrou K, Verbeken E, et al. Galactomannan and computed tomography-based preemptive antifungal therapy in neutropenic patients at high risk for invasive fungal infection: a prospective feasibility study. *Clin Infect Dis*. 2005 Nov 1;41(9):1242-50.
83. Dimech W, Bowden DS, Brestovac B, Byron K, James G, Jardine D, et al. Validation of assembled nucleic acid-based tests in diagnostic microbiology laboratories. *Pathology*. 2004 Feb;36(1):45-50.
84. Buchheidt D, Baust C, Skladny H, Ritter J, Suedhoff T, Baldus M, et al. Detection of *Aspergillus* species in blood and bronchoalveolar lavage samples from immunocompromised patients by means of 2-step polymerase chain reaction: clinical results. *Clin Infect Dis*. 2001 Aug 15;33(4):428-35.
85. Bretagne S, Costa JM, Bart-Delabesse E, Dhédin N, Rieux C, Cordonnier C. Comparison of serum galactomannan antigen detection and competitive polymerase chain reaction for diagnosing invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis*. 1998 Jun;26(6):1407-12.
86. Costa C, Costa JM, Desterke C, Botterel F, Cordonnier C, Bretagne S. Real-time PCR coupled with automated DNA extraction and detection of galactomannan antigen in serum by enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2002 Jun;40(6):2224-7.
87. Loeffler J, Hebart H, Brauchle U, Schumacher U, Einsele H. Comparison between plasma and whole blood specimens for detection of *Aspergillus* DNA by PCR. *J Clin Microbiol*. 2000 Oct;38(10):3830-3.
88. Costa C, Vidaud D, Olivi M, Bart-Delabesse E, Vidaud M, Bretagne S. Development of two real-time quantitative TaqMan PCR assays to detect circulating *Aspergillus fumigatus* DNA in serum. *J Microbiol Methods*. 2001 Apr;44(3):263-9.
89. Denning DW. Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis*. 1998 Apr;26(4):781-803.
90. García ME, Blanco JL, Caballero J, Gargallo-Viola D. Anticoagulants interfere with PCR used to diagnose invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2002 Apr; 40 (4):1567-8.
91. Baskova L, Buchta V. Laboratory diagnostics of invasive fungal infections: an overview with emphasis on molecular approach. *Folia Microbiol (Praha)*. 2012 Sep;57(5):421-30.
92. Kawamura S, Maesaki S, Noda T, Hirakata Y, Tomono K, Tashiro T, et al. Comparison between PCR and detection of antigen in sera for diagnosis of pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 1999 Jan;37(1):218-20.
93. Rickerts V, Mousset S, Lambrecht E, Tintelnot K, Schwerdtfeger R, Presterl E, et al. Comparison of histopathological analysis, culture, and polymerase chain reaction assays to detect invasive mold infections from biopsy specimens. *Clin Infect Dis*. 2007 Apr 15; 44(8):1078-83.
94. Mengoli C, Cruciani M, Barnes RA, Loeffler J, Donnelly JP. Use of PCR for diagnosis of invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2009 Feb;9(2):89-96. Erratum in *Lancet Infect Dis*. 2009 May;9(5):280.
95. Tuon FF. A systematic literature review on the diagnosis of invasive aspergillosis using polymerase chain reaction (PCR) from bronchoalveolar lavage clinical samples. *Rev Iberoam Micol*. 2007 Jun;24(2):89-94.
96. White PL, Barton R, Guiver M, Linton CJ, Wilson S, Smith M, et al. A consensus on fungal polymerase chain reaction diagnosis: A United Kingdom-Ireland evaluation of polymerase chain reaction methods for detection of systemic fungal infections. *J Mol Diagn*. 2006 Jul;8(3):376-84.
97. White PL, Perry MD, Loeffler J, Melchers W, Klingspor L, Bretagne S, et al; European *Aspergillus* PCR Initiative. Critical stages of extracting DNA from *Aspergillus fumigatus* in whole-blood specimens. *J Clin Microbiol*. 2010 Oct;48 (10):3753-5.
98. Loeffler J, Kloepfer K, Hebart H, Najvar L, Graybill JR, Kirkpatrick WR, et al. Polymerase chain reaction detection of *Aspergillus* DNA in experimental models of invasive aspergillosis. *J Infect Dis*. 2002 Apr 15;185(8):1203-6.
99. Kawazu M, Kanda Y, Nannya Y, Aoki K, Kurokawa M, Chiba S, et al. Prospective comparison of the diagnostic potential of real-time PCR, double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for galactomannan, and a (1 α 3)- β -D-glucan test in weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders. *J Clin Microbiol*. 2004 Jun;42(6):2733-41.
100. Bhatti Z, Shaukat A, Almyroudis NG, Segal BH. Review of epidemiology, diagnosis, and treatment of invasive mould infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mycopathologia*. 2006 Jul;162(1):1-15.
101. Erjavec Z, Verweij PE. Recent progress in the diagnosis of fungal infections in the immunocompromised host. *Drug Resist Updat*. 2002 Feb;5(1):3-10.

Correspondência

Suellen GavronskiRua São Paulo 2171, Campus III,
89030-000 – Blumenau, SC, Brasil

Esquistossomose mansônica e translocação bacteriana: existe associação?

Schistosomiasis mansoni and bacterial translocation: Is there an association?

Kedma de Magalhães Lima¹

Roxana Braga de Andrade Teles²

Célia Maria Machado Barbosa de Castro³

Resumo

Translocação bacteriana (TB) é a passagem de microrganismos viáveis ou endotoxinas através da mucosa e lâmina própria do trato digestório para os linfonodos mesentéricos e outros órgãos. Para que a TB ocorra há necessidade da existência isolada ou em conjunto de fatores como queda da imunidade, alteração da microbiota e quebra da barreira defensiva da mucosa intestinal. Apesar dos inúmeros relatos sobre doenças bacterianas em esquistossomóticos, não foram encontrados trabalhos que elucidem a presença da TB, conseqüentemente, infecção e sepse na doença crônica, mesmo após esplenectomia. A esquistossomose pode provocar, além de alterações no sistema imunológico, dano ao intestino, sistema porta e linfonodos mesentéricos. Sexo e redução na evolução ponderal podem influenciar na resposta inflamatória contra *Schistosoma mansoni* e favorecer infecções secundárias. Esses fatores podem influenciar na presença da TB, entretanto, fazem-se necessários estudos experimentais para comprovar esta hipótese.

Palavras-chave

Bactérias; Bacteremia; Doenças parasitárias; Infecção; Prevenção de doenças; Sepse

INTRODUÇÃO

Translocação é a passagem de microrganismos viáveis ou endotoxinas através da mucosa e lâmina própria do trato digestório para os linfonodos mesentéricos e outros órgãos.⁽¹⁾ Esse fenômeno tem sido associado a candidemias, bacteremias e à síndrome da falência de múltiplos órgãos e sistemas.⁽²⁾ Os mecanismos que controlam a translocação dependem de múltiplos fatores relacionados ao microrganismo e ao hospedeiro. Acredita-se que, para ocorrer a passagem de bactérias e endotoxinas da luz intestinal para a corrente sanguínea haja necessidade da existência isolada, ou em conjunto, de uma queda da imunidade do paciente, uma alteração da microbiota e, também, uma quebra da barreira defensiva da mucosa intestinal.⁽³⁾

No caso das bactérias aeróbias Gram negativas, a translocação pode ocorrer com certa facilidade, até mesmo em indivíduos não injuriados, com enterócitos intactos. As anaeróbias translocam apenas em situações em que o intestino se encontra estruturalmente danificado. Além disso, bactéria intestinal pode causar doença sistêmica em

indivíduos imunodeprimidos sem outras condições associadas, levando a crer que a disfunção imune promove primariamente translocação bacteriana.⁽⁴⁾ Para fungos, o processo de passagem de microrganismos também pode ser porta de entrada para candidemia e choque séptico, principalmente em pacientes imunodeprimidos.⁽⁴⁾ Contudo, a translocação de leveduras via trato digestório ainda não está totalmente estabelecida.

A esquistossomose, como agente facilitador de doenças bacterianas, encontra-se bem documentada na associação com Gram negativos.⁽⁵⁾ Porém, alguns estudos descrevem a interação da esquistossomose com bactérias Gram positivas^(6,7) e com micobactérias.⁽⁸⁾ Os esquistossomóticos podem apresentar drenagem prejudicada por ação mecânica, traumática, irritativa e espoliativa dos parasitos adultos, que se alimentam de sangue e obstruem os vasos. A ação traumática dos vasos mesentéricos deve-se também aos ovos espiculados que os atravessam pelo intestino e são expelidos nas fezes.⁽⁹⁾ Na literatura pesquisada, apesar dos inúmeros relatos sobre doenças bacterianas em esquistossomóticos, não foram encontrados trabalhos

¹Doutora. Professora Adjunta. Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife, PE, Brasil.

²Doutoranda em Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS, BA, Brasil.

³ Professora Associada. Departamento de Medicina Tropical/Microbiologia e Imunologia, responsável pelo setor de Microbiologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA/UFPE – Recife, PE, Brasil.

Instituição: Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF – Petrolina, PE, Brasil.

Artigo recebido em 25/08/2015

Artigo aprovado em 24/02/2016

que esclareçam as dúvidas a respeito da presença da translocação microbiana, infecção e sepse na esquistossomose mansônica, mesmo sabendo que o último pode provocar, além de alterações no sistema imunológico, dano ao intestino, sistema porta e linfonodos mesentéricos. Em 2005, Ferraz et al.⁽¹⁰⁾ evidenciaram a prevalência de bactérias aeróbias em linfonodos mesentéricos de pacientes com a doença crônica, e concluíram que a presença bacteriana poderia ser consequência da translocação, processo crucial nas complicações infecciosas pós-operatórias.

Em camundongos infectados por *Schistosoma mansoni* foi demonstrada a secreção de citocinas Th1 pelas células hepáticas antes da postura dos ovos, com aumento da Th2 devido à presença de antígenos dos ovos, com decréscimo na secreção de IFN- γ e IL-2, coincidindo com elevação de IL-4 e IL-5.⁽¹¹⁾ A IFN- γ estimula a destruição intracelular de microrganismos pelas células fagocíticas; assim, a resposta Th1 constitui resposta normal às infecções bacterianas, fúngicas e virais conferindo resistência.⁽¹²⁾ Ao contrário, a resposta Th2 associa-se com hipersensibilidade, pois a IL-4 estimula a produção de IgE pelas células B e a IL-5, e a proliferação de eosinófilos.⁽¹³⁾ Desta forma, na esquistossomose crônica ocorre predomínio da resposta imunológica do perfil Th2, que se sobressai à resposta Th1, o que poderia provocar imunodeficiência relativa e facilitar a translocação bacteriana.

Sabe-se que o sistema endócrino pode influenciar o curso da infecção parasitária por modular o sistema imune, mas também pode ser explorado pelo parasito para manter sua sobrevivência.⁽¹⁴⁾ Em virtude destes fatos, a habilidade dos hormônios em afetar o sistema imunológico dirigido contra agentes infecciosos tem recebido maior atenção. A infecção por *S. mansoni* diminui as concentrações plasmáticas de LH e testosterona, fazendo com que os homens apresentem elevada resposta pró-inflamatória, resposta humoral, perfil Th1 e Th2. Consequentemente, estes indivíduos apresentam maior resposta inflamatória contra *S. mansoni*, desenvolvendo a forma mais grave da doença, com sintomas como hepatoesplenomegalia.⁽¹⁵⁾

Diante do grande número de pacientes esquistossomóticos na fase crônica, bem como a existência das evidências sobre a associação com infecções bacterianas, decidimos expor características da esquistossomose mansônica e da translocação bacteriana, além de fatores que podem favorecer o desenvolvimento de infecções secundárias, e, assim, favorecer a compreensão a respeito das causas das coinfeções por componentes da microbiota intestinal.

ESQUISTOSSOMOSE

Dentre as esquistossomoses, a mansônica, helmintíase do sistema vascular mesentérico, causada pelo

Schistosoma mansoni, é considerada a mais importante por sua grande disseminação. No Brasil, essa endemia se constitui em um dos mais sérios problemas de saúde pública.^(16,17) A área endêmica mais importante está localizada em uma faixa de terra contínua ao longo do litoral, atingindo os estados de Alagoas, Bahia, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe na região Nordeste, Espírito Santo e Minas Gerais na região Sudeste. Estima-se que 25 milhões de pessoas vivem em áreas sob risco de contrair a doença. Segundo a Portaria da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS), acredita-se que o número de pessoas infectadas seja muito maior que o número de casos registrados, apesar de ser uma doença de notificação compulsória nas áreas não endêmicas.^(18,19)

Apesar de algumas ações de controle para esquistossomose serem realizadas no Brasil, os danos físicos gerados por essa doença ainda incapacitam grande número de pessoas em todo o país, principalmente no Nordeste.⁽²⁰⁾ Araújo et al.⁽²¹⁾ detectaram 12 casos de mielorraquidulopatia esquistossomótica atendidos no Instituto Materno Infantil Professor Fernando Figueira (IMIP) entre 2000 e 2004. Desde a década de 1990 tem-se observado a expansão da esquistossomose para áreas urbanas litorâneas e Região Metropolitana do Recife (RMR), com quatro casos agudos da doença registrados na Praia de Itamaracá⁽²²⁻²⁴⁾ e um surto epidêmico na Praia de Porto de Galinhas, com 662 casos da forma aguda da doença,⁽²⁵⁾ além dos focos de moluscos vetores que vêm surgindo no litoral e RMR.⁽²⁶⁾

Os vermes adultos do *S. mansoni* habitam preferencialmente as vênulas do plexo hemorroidário inferior e as ramificações das veias mesentéricas do hospedeiro vertebrado, especialmente a mesentérica inferior, onde migram para a submucosa intestinal onde a fêmea faz a oviposição. Cada fêmea põe, em média, 300-400 ovos/dia, os quais levam cinco dias para amadurecer. Parte dos ovos atravessa a parede dos vasos, a lâmina própria do epitélio intestinal, chegando à luz do intestino em um período de seis dias, sendo eliminados junto com as fezes.⁽²⁷⁾

Manifestações clínicas

Os sintomas apresentados pela esquistossomose dependem da cepa, carga parasitária, idade, estado nutricional e resposta imune do paciente.⁽²⁷⁾ A esquistossomose se desenvolve em duas fases, aguda e crônica. Esta última pode apresentar três formas clínicas: intestinal, hepato-intestinal e hepatoesplênica.⁽²⁸⁾ Logo após o contato infectante, alguns indivíduos se queixam de manifestações pruriginosas na pele, dermatite cercariana, decorrente da morte de até metade das cercárias que penetraram na pele, com intensidade e duração de 24-72 horas pós-infecção, podendo estender-se por 15 dias, muitas vezes não reco-

nhecidas em áreas endêmicas.⁽²⁹⁾ O desaparecimento dos sinais cutâneos corresponde ao período de incubação, que pode durar de quatro a oito semanas, quando há o desenvolvimento dos esquistossômulos.⁽³⁰⁾

O paciente pode desenvolver a fase aguda da doença, caracterizada por febre alta, mal-estar, astenia, urticária, tosse, anorexia, náuseas, vômitos, mialgias, cefaleia e diarreia. Em virtude desses sintomas também ocorrerem em várias outras doenças infecciosas e parasitárias, o quadro clínico pode não sugerir o diagnóstico. O exame físico pode detectar abdome distendido e doloroso, com fígado e baço aumentados.⁽³¹⁾ Essas manifestações da fase aguda não são evidenciadas em moradores de áreas endêmicas, que apresentam a forma assintomática da doença, ela é mais comum em turistas, viajantes e pessoas expostas acidentalmente à transmissão.⁽³²⁾ A fase aguda pode durar, em média, trinta a sessenta dias, desaparecendo quando o paciente é submetido a tratamento específico, ou podendo evoluir para a fase crônica caso não haja tratamento.⁽³¹⁾

A fase crônica não ocorre devido aos vermes adultos, mas sim aos ovos que se prendem aos tecidos durante a migração peri-intestinal, ou após embolização do fígado, baço, pulmões e sistema cérebro-espinal, provocando inflamação eosinofílica e reação granulomatosa, que gradativamente dá lugar a depósitos fibróticos.⁽³³⁾ A doença resulta de deposição maciça de colágeno nos espaços periportais, induzindo a Fibrose de Symmers. Quando há comprometimento das funções e aumento do volume do fígado e do baço, ocorre a forma hepatoesplênica da doença, na qual são observadas alterações anatômicas, fisiopatológicas e clínicas, resultantes das lesões teciduais provocadas pelos ovos do parasito.⁽³⁴⁾ Nessa fase, há pacientes que permanecem na sua forma clínica estacionária ou compensada, conservando um bom estado geral, com sintomatologia de pequena intensidade. Outros, porém, evoluem para as formas mais graves ou descompensadas, apresentando bloqueio intenso causado pelo grande número de depósitos fibróticos que reduzem o fluxo sanguíneo do território drenado pela veia porta. O baço aumenta de volume, em grande parte devido à congestão da veia esplênica do sistema porta, bem como devido à hiperplasia das células do sistema macrofágico-linfocitário, com diferenciação plasmocitária e produção de imunoglobulinas, em virtude da presença de grande quantidade de substâncias antigênicas.⁽²⁸⁾ Em infecções por *S. mansoni*, o processo fibrótico pode levar de cinco a quinze anos.⁽³⁵⁾

A doença ainda pode acarretar lesões cardiopulmonares e glomerulonefrite.⁽³⁶⁾ Lesões no aparelho reprodutor de homens e de mulheres também ocorrem em áreas endêmicas, facilitando a transmissão sexual de outras doenças e podendo causar infertilidade.⁽³⁷⁾ Em revisão bibliográfica acerca das ocorrências de casos agudos e crônicos da doença no Brasil, de 1997 a 2006, evidenciou-se a

escassez de pesquisas com enfoque nas formas clínicas da esquistossomose mansônica, o que denota falta de interesse ou de estímulo à investigação sobre o tema por parte da comunidade científica. Como consequência, existe pouca repercussão sobre a gravidade da doença esquistossomótica no Brasil e reduzidas políticas de investimentos em saneamento básico e ambiental. Tais políticas teriam o poder de minimizar a ocorrência desse agravo, melhorando a qualidade de vida das populações menos favorecidas.⁽³⁸⁾

IMUNOMODULAÇÃO

Os linfócitos, células da resposta imune adaptativa que reconhecem e respondem especificamente a antígenos estranhos, são constituídos por subpopulações bem distintas quanto às suas funções e produtos proteicos, ainda que todos pareçam morfológicamente semelhantes. Estas subpopulações correspondem aos linfócitos B, células produtoras de anticorpos, e aos linfócitos T, mediadores da imunidade celular. Os linfócitos T se encontram subdivididos em populações distintas quanto à função, das quais, as mais bem definidas são as células T auxiliares (Th) ou CD4+ e as células T citotóxicas ou CD8+.⁽³⁹⁾ O perfil Th1 está relacionado à secreção das citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- α , INF- γ e IL-2), estando envolvida na formação de infiltrado rico em neutrófilos polimorfonucleares (PMN), ativação de macrófagos, proteção contra bactérias intracelulares, eliminação de vírus e fungos, além da formação de granulomas. Por outro lado, no perfil Th2 são produzidas IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13, que estão implicados, essencialmente, nas respostas imunológicas alérgicas, proteção contra infecções helmínticas e caracterizado por infiltrados ricos em eosinófilos, mastócitos e por aumento da síntese da IgE.⁽³⁹⁾

Segundo Araújo,⁽⁴⁰⁾ que avaliou o fenômeno de imunossupressão específica em esquistossomóticos crônicos, células mononucleares de sangue periférico de 64% dos pacientes apresentaram baixa resposta linfoproliferativa, e nenhum deles produziu IFN- γ para antígenos do *Schistosoma in vitro*. Por outro lado, estas células produziram IL-4, IL-5 e IL-10 em resposta ao antígeno de verme adulto, demonstrando expansão dos linfócitos Th2. O mesmo padrão de citocinas foi observado por Grzych et al.⁽⁴⁰⁾ estudando células esplênicas de camundongos infectados com *S. mansoni*.

Dados da literatura indicam que a IL-10 é citocina amplamente regulatória, pois se opõe à síntese de IFN- γ e IL-2, que são importantes para a proliferação de células T e a ativação de macrófagos. A inibição da síntese dessas citocinas pela IL-10 parece ser indireta, ou seja, ela agiria sobre as células apresentadoras de antígenos (APC), especialmente monócitos e macrófagos, inibindo a expressão de moléculas do complexo de histocompatibilidade princi-

pal do tipo II (MHC classe II) e coestimulatórias como B7-2, o que resultaria na ausência, ou diminuição, da apresentação dos antígenos e, por conseguinte, falta de ativação celular e ausência na produção de IL-2 e IFN- γ .⁽⁴¹⁾ O efeito da intensidade de infecção pelo *S. mansoni* sobre a produção de IFN- γ , IL-10 e IL-13 por PMN de indivíduos residentes em área endêmica para este helminto foi avaliado por Silveira et al.⁽⁴²⁾ Estes autores observaram que os níveis de IFN- γ diminuem gradualmente com o aumento da intensidade da infecção, que é decisiva para a produção de IL-10 e dominância da resposta Th2. Outro mecanismo relacionado à inibição da síntese de IFN- γ por IL-10 é que esta citocina é capaz de inibir a síntese de IFN- γ pelas células *natural killers* (NK), mecanismo importante para a derivação da resposta imunológica para o tipo Th1.⁽⁴³⁾

Estudos demonstraram que a indução de Th1 e Th2 requer envolvimento inicial das células dendríticas, que são células apresentadoras de antígenos derivadas da medula óssea. As células dendríticas são as únicas capazes de capturar, transportar, processar e apresentar antígenos aos linfócitos virgens para iniciar a resposta imune adaptativa.⁽⁴⁴⁾ Embora os mecanismos pelos quais os patógenos virais, bacterianos ou protozoários que interagem e ativam as células dendríticas estejam cada vez mais compreendidos, pouco se sabe como essas células reagem a organismos mais complexos, tais como *Schistosoma*. Estudos têm investigado o impacto das células dendríticas sobre os antígenos de diferentes fases da vida do ciclo do *S. mansoni* e revelaram um fenótipo de célula dendrítica bastante distinto ao de ativação convencional.^(45,46)

INFLUÊNCIA DO GÊNERO NA ESQUISTOSSOMOSE

Mulheres têm o timo mais desenvolvido, maiores níveis de imunoglobulinas e maior proporção de linfócitos T CD4/CD8+ na circulação periférica.⁽⁴⁷⁾ Os esteroides gonadais podem regular o número de monócitos, sua produção de citocinas e a diferenciação destes monócitos em macrófagos, exercendo suas funções sobre o sistema imunológico por modificar a secreção das citocinas imunomoduladoras e regular a expressão de receptores na superfície celular. Estes mecanismos influenciam tanto o número como a função da célula. O estrogênio não altera a atividade celular imunossupressora, mas concernente à imunidade humoral, em concentrações fisiológicas, estimula a produção de imunoglobulinas, possivelmente pela inibição dos linfócitos T supressores.⁽⁴⁸⁾ Há fortes evidências de que o estrogênio causa mudanças tanto no número total de linfócitos como nos seus diferentes subtipos. *In vitro*, os estrogênios promovem a proliferação dos linfócitos T, diferenciação, proliferação e sobrevivência dos linfócitos B e maior produção de imunoglobulinas IgG e IgM.⁽⁴⁹⁾

Os androgênios são principalmente supressores das imunidades celular e humoral, tendo a capacidade de modificar tanto as ações dos linfócitos T como dos linfócitos B, além de regular as funções imunocompetentes do linfócito T.⁽⁵⁰⁾ A testosterona não age nas células imunossupressoras. Receptores para a dehidroepiandrosterona (DHEA) foram identificados nos linfócitos T humanos, mas é possível que androgênios fracos atuem apenas após conversão em androgênios ativos ou em estrogênios (estrone, estradiol). Enzimas capazes desta conversão são expressas nos PMN e macrófagos. A DHEA parece capaz de aumentar a secreção de IL-2, ativar as células NK e inibir a liberação de IL-6 *in vitro*.⁽⁵¹⁾ No entanto, nenhum benefício sobre a resposta imune foi mostrado com seu uso clínico.⁽⁵²⁾ Androgênios, como os estrogênios, podem ainda suprimir a linfopoiese B em consequência da presença de receptor específico antagonista androgênico na medula óssea. Via conversão metabólica a estrogênios, os androgênios podem também estimular a resposta imuno-humoral.⁽⁵⁰⁾

Alterações nas funções reprodutoras de mamíferos esquistossomóticos, provocadas por diminuições nos níveis sorológicos de gonadotropinas (FSH e LH) e testosterona têm despertado a atenção da comunidade científica. Experimentos com ratos e hamsters,⁽⁵³⁾ e com coelhos,⁽⁵⁴⁾ mostraram que a infecção por *S. mansoni* pode prejudicar a função reprodutora por diminuir as concentrações plasmáticas de LH e testosterona. Em humanos, demonstrou-se que a esquistossomose pode causar anomalias anatómicas dos órgãos genitais e efeitos adversos no sistema endócrino, podendo haver diminuição da contagem de espermatozoides. Estes achados podem estar relacionados a aumento dos níveis sorológicos de estradiol e diminuição na testosterona.⁽⁵⁵⁾

Entre crianças e adultos, a intensidade e prevalência das infecções causadas por *Schistosoma* em áreas endêmicas são maiores em homens do que em mulheres.⁽²⁰⁾ Essas diferenças poderiam ser atribuídas a vários fatores, incluindo o comportamento, o *habitat*, maior contato com água contaminada, maior exposição aos moluscos e diferença na pele que poderia facilitar a penetração da cercária.⁽⁵⁶⁾ Entretanto, a infecção por *S. mansoni* diminui as concentrações plasmáticas de LH e testosterona, fazendo com que os homens apresentem elevada resposta pró-inflamatória, humoral, perfil Th1 e Th2.⁽⁵⁷⁾ Consequentemente, estes indivíduos apresentam maior resposta inflamatória contra *S. mansoni*, desenvolvendo a forma mais grave da doença, com sintomas como hepatoesplenomegalia. Em contraste, uma resposta regulatória, incluindo síntese de IL-10 e TGF- β , que limitam e regulam as respostas inflamatórias, encontra-se maior em fêmeas. A produção de IgA, que protege contra reinfeção por *Schistosoma*, também é maior em fêmeas do que em machos.⁽⁵⁸⁾

Apesar dos machos serem mais suscetíveis do que as fêmeas a muitos parasitas, existem exceções onde eles são mais resistentes. É o caso dos camundongos *Mus musculus* machos, que são menos suscetíveis do que as fêmeas a infecção por *S. mansoni*. Estes efeitos são mais bem observados quando a testosterona é administrada durante o desenvolvimento das formas imaturas do parasita.⁽⁵⁹⁾

MICROBIOTA DO TRATO DIGESTÓRIO

O trato digestório dos mamíferos abriga microbiota extremamente densa e diversa, podendo ser colonizado por cerca de 10^{14} tipos de células procariotas e eucariotas.⁽⁶⁰⁾ O conceito de intestino como o mais complexo ecossistema bacteriano conhecido surge do fato de que mais de 75% do peso seco de produtos fecais são compostos por células microbianas e que cada grama contém, aproximadamente, 1×10^{11} microrganismos de, aproximadamente, cinquenta a duzentos gêneros.⁽⁶¹⁾

Diversos tipos de microrganismos estão presentes no intestino. Bactérias são predominantes, mas uma variedade de protozoários é comumente encontrada. Fungos anaeróbios são amplamente distribuídos no trato digestório de herbívoros, como também o são leveduras e bacteriófagos. Tem se estimado que o cólon de alguns mamíferos contém aproximadamente de setecentas a mil espécies diferentes de bactérias e são caracterizadas por sua densidade, diversidade e complexidade de interações.⁽⁶⁰⁾ Estudo indica que somente trinta a quarenta destas espécies chegam a atingir níveis dominantes, onde passam a ter funções para o hospedeiro que as aloja.⁽⁶²⁾ Toda esta comunidade microbiana pode se localizar no lúmen, nas criptas de Lieberkuhn ou na superfície do epitélio intestinal. Seu estabelecimento e manutenção constitui processo complexo, que pode ser influenciado por vários fatores, como: dieta, idade, utilização de antibióticos, utilização de probióticos e prebióticos, ambiente, microbiota materna, via do parto, interações microbianas e microrganismo/hospedeiro e a presença de certos genes e receptores, além de sua sucessão ecológica, demanda nutricional e tolerância oral.⁽⁶³⁾ Estes dados mostram que a microbiota é um ecossistema imensamente complexo, que pode ser comparado a uma entidade funcional ou a um "órgão" dentro do hospedeiro.⁽⁶⁴⁾

Algumas das funções da microbiota intestinal têm considerável importância para o hospedeiro. Elas incluem a resistência à colonização, à modulação do sistema imune e participação na nutrição do hospedeiro.⁽⁶⁵⁾ De forma geral, os microrganismos da biota residente são inócuos e benéficos na sua localização normal no hospedeiro e na ausência de anormalidades concomitantes. Por outro lado, os próprios membros da microbiota podem provocar doença em certas circunstâncias. Estes microrganismos estão adaptados ao modo de vida não invasivo, definido pelas limita-

ções do meio ambiente. Se forem retirados das restrições desse ambiente e introduzidos na corrente sanguínea ou em tecidos, esses agentes podem tornar-se patogênicos.⁽⁶⁶⁾

TRANSLOCAÇÃO MICROBIANA

A alta incidência de infecções sistêmicas em diversas situações de injúria orgânica, aliada à presença de microbiota específica para cada tipo de infecção, levou à formação do conceito de translocação microbiana. O intestino foi considerado o local mais importante na origem destas infecções, pelo fato de ser um grande reservatório de microrganismos. Estes permanecem no lúmen intestinal, pois são contidos por eficiente barreira mucosa.⁽¹⁾

Translocação bacteriana (TB) é a passagem de micróbios viáveis e não viáveis, assim como de seus produtos, a exemplo das endotoxinas, através de barreira mucosa intestinal. A fisiologia da TB depende do papel de barreira exercido pela mucosa intestinal, sendo auxiliada pelos componentes do sistema imune celular (enterócitos, macrófagos e linfócitos T) e humoral (IgG, IgM e IgA secretória).⁽¹⁾ Vários estudos em animais têm demonstrado que TB é fenômeno multifatorial, que pode ser resultado do rompimento do equilíbrio normal da microbiota indígena, o que contribui para o excessivo crescimento de determinadas bactérias. O sistema imunológico do hospedeiro debilitado ou a ruptura física da barreira intestinal também podem, isoladamente ou em associação, facilitar a passagem de bactéria via intestino.⁽²⁾

As bactérias mais comumente encontradas em processos de translocação são bactérias presentes na microbiota intestinal normal, principalmente bacilos Gram negativos aeróbios e facultativos, bactérias que normalmente colonizam em grande número o intestino. Segundo Wiest e Rath,⁽¹⁾ bactérias aeróbias Gram negativas podem translocar com certa facilidade, até mesmo em indivíduos não injuriados, com enterócitos intactos. Bactérias anaeróbias translocam apenas em situações em que o intestino se encontra estruturalmente danificado. Além disto, estas bactérias formariam um "tapete", revestindo a superfície mucosa, impedindo assim a colonização por micróbios potencialmente invasores.⁽⁶⁷⁾ A capacidade de translocação é maior em linhagens específicas de bactérias, principalmente as que possuem maior capacidade de aderência e fixação ao epitélio produtor de muco. Esta capacidade geralmente está associada aos bacilos entéricos portadores de fímbrias, por exemplo, alguns tipos de *Escherichia coli*.⁽¹⁾

Estudos mostram que bactéria intestinal pode causar doença sistêmica em indivíduos imunossuprimidos, sem outras condições associadas. Isto leva a crer que a disfunção imune promove primariamente translocação.^(1,67) Entretanto, a ocorrência de translocação bacteriana para os linfonodos mesentéricos em animais saudáveis foi observada por pesquisadores e tem sido considerada como parte de

estimulação normal antigênica do tecido linfoide associado ao intestino, mesmo na ausência de injúria.⁽⁶⁸⁾ Para Berg,⁽⁶⁵⁾ a translocação ocorreria em três estágios; no primeiro, a bactéria transporia a mucosa intestinal, alcançando os linfonodos mesentéricos; no segundo, a bactéria migraria dos linfonodos mesentéricos para outros órgãos como fígado, baço, pulmões e rins; e no terceiro e último estágio, a bactéria se disseminaria pela cavidade peritoneal e sangue, provocando quadro septicêmico.

Existem evidências que sugerem papel chave do macrófago intestinal no processo de translocação. Bactérias *E. coli* marcadas mostraram translocar através de trânsito direto pelos enterócitos, alcançando a lâmina própria onde são fagocitadas por macrófagos, que transportam a bactéria até os linfonodos mesentéricos, liberando assim as bactérias sobreviventes.⁽¹⁾ Transporte direto de *Salmonella* do trato digestório até a corrente sanguínea também se daria através de macrófagos, presentes na lâmina própria. A partir daí, viajariam até os nódulos linfáticos, fígado, baço e medula óssea, alcançando assim a corrente sanguínea. O macrófago, muitas vezes, se mostra incapaz de matar o microrganismo, servindo então como seu meio de transporte.⁽⁷⁰⁾ Outra porta de entrada microbiana sugerida seria através das células de membrana, encontradas em porcentagens variáveis no intestino de diferentes espécies e facilmente identificadas pela microscopia eletrônica, devido à sua borda em escova incomum. Pesquisas mostram que elas transportam antígenos através da mucosa até o tecido linfoide, onde ocorrem as respostas imunitárias.⁽⁷¹⁾

Em humanos, translocação além de nódulos linfáticos raramente tem sido estudada. O principal impacto fisiológico da migração das bactérias além dos nódulos linfáticos até o ducto torácico seria a passagem através do sistema reticuloendotelial do fígado, que atuaria como filtro de toxinas e bactérias. Alguns autores têm relatado translocação de toxina através do ducto torácico em pacientes com falência sistêmica de órgãos.⁽⁷²⁾ Em modelos experimentais com grande injúria, tem sido observada predominância de translocação via veia porta, demonstrando bactérias na circulação porta após sua detecção em grande quantidade nos linfonodos mesentéricos. O cólon possui características de permeabilidade diferentes do intestino delgado, apresenta maior resistência elétrica e menor permeabilidade ao movimento passivo de íons. Estas características explicariam a maior suscetibilidade do intestino delgado à translocação bacteriana.⁽¹⁾

No trato digestório, as leveduras são encontradas como parte da microbiota normal, entretanto, sabe-se que alguns fatores, como imunossupressão do sistema imunológico e uso prolongado de antibióticos, favorecem o aumento das leveduras presentes no intestino. Assim, a colonização fúngica abundante associada a lesões da mucosa intestinal pode contribuir para translocação de leveduras

provenientes do intestino. Outros fatores que facilitam a translocação destes microrganismos são terapia com antibióticos, obstrução intestinal, medicações citotóxicas, hiperpirexia e alimentação parenteral.⁽⁷³⁾ O principal mecanismo de defesa contra fungos é desenvolvido pelos fagócitos, que os destroem por meio da produção de óxido nítrico e de outros componentes secretados por essas células. Adicionalmente, há participação de IFN- γ , aumentando a função de neutrófilos e macrófagos, não havendo evidências de atividade citotóxica por células T CD8+. Portanto, pacientes que apresentam neutropenia (menos de 500 neutrófilos/mm³) ou que tenham deficiência da imunidade celular cursam com frequência com micoses recorrentes e ocasionalmente desenvolvem formas graves e profundas.⁽⁷⁴⁾

Apesar da infecção por *Candida albicans* causar habitualmente infecções leves e sem maiores consequências, pacientes imunossuprimidos não apresentam apenas alta prevalência da infecção por *C. albicans*, mas também envolvimento de esôfago, estômago e intestino, sendo comuns infecções recorrentes. É consenso que a maior parte das candidemias é precedida pelo evento de colonização do próprio paciente pela mesma espécie de levedura responsável pela infecção. Em crianças que apresentam alteração na resposta imune celular e distúrbios endócrinos múltiplos, o quadro raro de candidíase mucocutânea crônica é descrito. Nessas crianças observam-se diminuição da resposta Th1 e lesões cutâneas, de mucosas e ungueais graves.⁽⁷⁵⁾

Gianotti et al.⁽⁷⁶⁾ avaliaram a translocação de *C. albicans* através da parede intestinal em grupo de vilosidades com diferentes níveis de perfusão sanguínea e concluíram que quanto maior o fluxo sanguíneo para as vilosidades, menor lesão ocorre na mucosa e menor é o índice encontrado de translocação de *C. albicans*. Colombo et al.⁽⁷⁷⁾ relataram caso de paciente não neutropênico HIV-positivo que apresentava candidemia cuja origem pareceu ter sido via translocação pelo trato digestório. Além destes, estudos com ratos demonstram que a hipóxia é fator para disseminação extraintestinal de *C. albicans*.⁽⁷⁸⁾

CONCLUSÕES

Diante do observado, fazem-se necessários estudos para melhor se conhecer a associação da esquistossomose crônica com outros processos infecciosos, a fim de se obterem estratégias que busquem novos instrumentos de controle da doença crônica e de suas ações no organismo humano; e, assim, diminuir a morbidade e mortalidade pelo *Schistosoma mansoni* e doenças associadas.

A esquistossomose crônica parece possuir fatores favoráveis para a estimulação da translocação microbiana, como alterações imunológicas e da mucosa intestinal, ovos espiculados que rompem a mucosa intestinal e disfunção

nutricional. Entretanto, estudos experimentais são de extrema importância para comprovar este fenômeno na esquistossomose, através da análise microbiológica de fragmentos dos linfonodos mesentéricos, órgãos, sangue porta e periférico; correlacionando com os microrganismos da microbiota do trato digestório.

Abstract

Bacterial translocation (TB) is the passage of viable micro-organisms and endotoxins through the mucosa and own lamina of the digestive tract to the mesenteric lymph nodes and other organs. For that TB occurs, there is need, isolated or set, of factors as weakened immune system, alteration of the microbiota and break the defensive barrier of the intestinal mucosa. Despite numerous reports of bacterial diseases in schistosomiasis, there were no studies to elucidate the presence of TB, consequently, infection and sepsis in chronic disease, even after splenectomy. Schistosomiasis can cause alterations in the immune system, damage to the intestine, portal system and mesenteric lymph nodes. Sex and reduction in weight gain may influence the inflammatory response against Schistosoma mansoni and favor secondary infections. These factors may influence the presence of TB, however, do experimental studies are needed to confirm this hypothesis.

Keywords

Bacteria; Bacteremia; Infection; Parasitic diseases; Disease prevention; Sepsis

REFERÊNCIAS

- Wiest R, Rath HC. Gastrointestinal disorders of the critically ill. Bacterial translocation in the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2003 Jun;17(3):397-425.
- Nikitenko VI, Stadnikov AA, Kopylov VA. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract in healthy and injured rats. *J Wound Care*. 2011 Mar; 20(3):114-22.
- Marchetti G, Cozzi-Lepri A, Merlini E, Bellistri GM, Castagna A, Galli M, et al; ICONA Foundation Study Group. Microbial translocation predicts disease progression of HIV-infected antiretroviral-naïve patients with high CD4+ cell count. *AIDS*. 2011 Jul 17;25(11):1385-94.
- Suzuki S, Kitazawa T, Ota Y, Okugawa S, Tsukada K, Nukui Y, et al. Dengue hemorrhagic shock and disseminated candidiasis. *Intern Med*. 2007;46 (13):1043-6.
- Muniz-Junqueira MI, Tosta CE, Prata A. Salmonelose septicêmica prolongada associada à esquistossomose: evolução do conhecimento e mecanismos imunopatogênicos. *Rev da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2009; 42: 436-45.
- Teixeira R, Coelho PM, Brasileiro Filho G, Azevedo Junior GM, Serufo JC, Pfeilsticker FJ, et al. Pathogenic aspects of pyogenic liver abscess associated with experimental schistosomiasis. *Am J Trop Med Hyg*. 2001 May-Jun;64(5-6):298-302.
- Sánchez-Olmedo JI, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J, Jiménez-Jiménez J, Travado-Soria P. Schistosoma mansoni and Staphylococcus aureus bacteremia: a deadly association. *Intensive Care Med*. 2003 Jul;29(7):1204.
- Elias D, Akuffo H, Thors C, Pawlowski A, Britton S. Low dose chronic Schistosoma mansoni infection increase susceptibility to Mycobacterium bovis BCG infection in mice. *Clin Exp Immunol*. 2005 Mar;139(3):398-404.
- Wilson RA. The saga of schistosome migration and attrition. *Parasitology*. 2009 Oct;136(12):1581-92.
- Ferraz AA, Campos JM, Júnior JG, DeAlbuquerque AC, Ferraz EM. Gut bacterial translocation and postoperative infections: a prospective study in schistosomal patients. *Surg Infect (Larchmt)*. 2005;6(2):197-201.
- Schramm G, Haas H. Th2 immune response against Schistosoma mansoni infection. *Microbes Infect*. 2010 Nov;12(12-13):881-8.
- Levinson W. *Microbiologia médica e imunologia*. 10rd ed. Porto Alegre: Artmed; 2010.
- Pearce EJ, Macdonald AS. The immunobiology of schistosomiasis. *Nat Rev Immunol*. 2002 Jul;2(7):499-511.
- Escobedo G, Roberts CW, Carrero JC, Morales-Montor J. Parasite regulation by host hormones: an old mechanism of host exploitation? *Trends Parasitol*. 2005 Dec;21(12):588-93.
- Naus CW, van Remoortere A, Ouma JH, Kimani G, Dunne DW, Kamerling JP, et al. Specific antibody responses to three schistosome-related carbohydrate structures in recently exposed immigrants and established residents in an area of Schistosoma mansoni endemicity. *Infect Immun*. 2003 Oct;71(10):5676-81.
- Teles HM. Geographic distribution of Schistosoma mansoni transmitter snail species in State of São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005 Sep-Oct;38(5):426-32. [Article in Portuguese].
- Katz N, Almeida K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. *Ciência e Cultura* 2003;55:38-43.
- Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Esquistossomose. Brasília, DF; 2009.
- Teles HM, Pereira PA, Richinitti LM. Distribuição de Biomphalaria (Gastropoda, Planorbidae) nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil. *Rev Saude Publica*. 1991 Oct;25(5):350-2.
- Ferreira ILM, Silva TPT. Mortalidade por esquistossomose no Brasil: 1980-2003. *Rev. Patol. Tropical*. 2007 jan/abr.; 36(1):67-74.
- Araújo KCGM, Rosa e Silva C, Barbosa CS, Ferrari TCA. Clinical-epidemiological profile of children with schistosomal myeloradiculopathy attended at the Instituto Materno-Infantil de Pernambuco. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006;101 (Suppl. I):149-56.
- Gonçalves F, Coutinho A, Santana W, Barbosa CS. Episodic acute schistosomiasis in Ilha de Itamaracá, state of Pernambuco (Brazil). *Cad Saude Publica*. 1991 Jul-Sep;7(3):424-5. [Article in Portuguese].
- Barbosa CS, Pieri OS, da Silva CB, Barbosa FS. Ecoepidemiology of urban schistosomiasis in Itamaracá Island, Pernambuco, Brazil. *Rev Saude Publica*. 2000 Aug;34(4):337-41. [Article in Portuguese]
- Barbosa CS, Araújo KC, Antunes L, Favre T, Pieri OS. Spatial distribution of schistosomiasis foci in Itamaracá Island, Pernambuco, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;99(5 Suppl 1):79-83.
- Barbosa CS, Domingues AL, Abath F, Montenegro SM, Guida U, Carneiro J, et al. An outbreak of acute schistosomiasis at Porto de Galinhas beach, Pernambuco, Brazil. *Cad Saude Publica*. 2001 May-Jun;17(3):725-8. [Article in Portuguese].
- Samico MJA. Estudo da distribuição dos planorbídeos transmissores do S. mansoni em Piedade, Jaboatão dos Guararapes, PE. Recife, 1989. Monografia (Bacharelado) - Faculdade de Filosofia do Recife, PE; 1989.
- Neves DP, Melo AL, Linardi PM, et al. Parasitologia humana. 11ª ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2005.
- Rey L. Parasitologia. Parasitos e Doenças Parasitárias do Homem nas Américas e na África. 2ª ed. Guanabara Koogan; 2000.
- Bottieau E, Clerinx J, de Vega MR, Van den Enden E, Colebunders R, Van Esbroeck M, et al. Imported Katayama fever: clinical and biological features at presentation and during treatment. *J Infect*. 2006 May;52(5):339-45.
- Domingues ALC, Domingues LAW. Forma intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica. In: Malta J. (Ed). Esquistossomose mansônica. Recife: Ed. Universitária da UFPE; 1994.
- Lambertucci JR. Acute schistosomiasis mansoni: revisited and reconsidered. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2010 Jul;105(4):422-35.
- Hatz CF. Schistosomiasis: an underestimated problem in industrialized countries? *J Travel Med*. 2005 Jan-Feb;12(1):1-2.
- Cheever AW, Hoffmann KF, Wynn TA. Immunopathology of schistosomiasis mansoni in mice and men. *Immunol Today*. 2000 Sep;21(9):465-6.
- Melo A, Coelho P. Schistosoma mansoni. Parasitologia Humana, São Paulo: Ed. Atheneu;2005.

35. Dessein AJ, Hillaire D, Elwali NE, Marquet S, Mohamed-Ali Q, Mirghani A, et al. Severe hepatic fibrosis in *Schistosoma mansoni* infection is controlled by a major locus that is closely linked to the interferon-gamma receptor gene. *Am J Hum Genet.* 1999 Sep;65(3):709-2.
36. Barsoum R. The changing face of schistosomal glomerulopathy. *Kidney Int.* 2004 Dec;66(6):2472-84.
37. Poggensee G, Feldmeir H. Female genital schistosomiasis: Facts and Hypothesis. *Acta Trop.* 2001 Jun 22;79(3):193-210.
38. Pordeus LC, Aguiar LR, Quinino LR, Barbosa CS. A ocorrência das formas aguda e crônica da esquistossomose mansônica no Brasil no período de 1997 a 2006: uma revisão de literatura. *Epidemiol. Serv. Saúde.* 2008 Jul-set, Brasília, 17(3):163-75.
39. Abbas AK, Lichtman AH. *Imunologia Celular e Molecular.* 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.
40. Grzych JM, Pearce E, Cheever A, Caulada ZA, Caspar P, Heiny S, et al. Egg deposition is the major stimulus for the production of Th2 cytokines in murine schistosomiasis mansoni. *J Immunol.* 1991 Feb 15;146(4):1322-7.
41. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol.* 2001;19:683-765.
42. Silveira AM, Gazzinelli G, Alves-Oliveira LF, Bethony J, Gazzinelli A, Carvalho-Queiroz C, et al. Human schistosomiasis mansoni: intensity of infection differentially affects the production of interleukin-10, interferon-gamma and interleukin-13 by soluble egg antigen or adult worm antigen stimulated cultures. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2004 Sep;98(9):514-9.
43. Kos FJ, Engleman EG. Immune regulation: a critical link between NK cells and CTLs. *Immunol Today.* 1996 Apr;17(4):174-6.
44. Shortman K, Liu YJ. Mouse and human dendritic cell subtypes. *Nat Rev Immunol.* 2002 Mar;2(3):151-61.
45. Wakkach A, Fournier N, Brun V, Breitmayer JP, Cottrez F, Groux H. Characterization of dendritic cells that induce tolerance and T regulatory 1 cell differentiation in vivo. *Immunity.* 2003 May;18(5):605-17.
46. Steinfelder S, Andersen JF, Cannons JL, Feng CG, Joshi M, Dwyer D, et al. The major component in schistosome eggs responsible for conditioning dendritic cells for Th2 polarization is a T2 ribonuclease (omega-1). *J Exp Med.* 2009 Aug 3;206(8):1681-90.
47. Amadori A, Zamarchi R, De Silvestro G, Forza G, Cavatton G, Danieli GA, et al. Genetic control of the CD4/CD8 T-cell ratio in humans. *Nat Med.* 1995 Dec;1(12):1279-83.
48. Grossman CJ, Rossele GA, Mendenhall CL. Sex steroid regulation of autoimmunity. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1991;40(4-6):649-59.
49. Kanda N, Tamaki K. Estrogen enhances immunoglobulin production by human PBMCs. *J Allergy Clin Immunol.* 1999 Feb;103(2 Pt 1):282-8.
50. Grossman CJ, Nienaber M, Mendenhall CL, Hurlbut P, Roselle GA, Rouster S, Weber N, Schmitt G, Gartside PS. Sex differences and the effects of alcohol on immune response in male and female rats. *Alcohol Clin Exp. Res.* 1993;17(4):832-40.
51. Luchetti CG, Solano ME, Sander V, Arcos ML, Gonzalez C, Di Girolamo G, et al. Effects of dehydroepiandrosterone on ovarian cystogenesis and immunofunction. *J Reprod Immunol.* 2004 Dec;64(1-2):59-74.
52. Artl W, Hewison M. Hormones and immune function: implications of aging. *Aging Cell.* 2004 Aug;3(4):209-16.
53. Lansoud-Soukate J, Leonardelli J, Torpier G, Croix D, Capron A. Role of *Schistosoma mansoni* bilharziasis in male hypogonadism. *Pathol Biol (Paris).* 1991 Sep;39(7):681-5. [Article in French].
54. Kasilima YS, Wango EO, Kigundu CS, Mutayoba BM, Nyindo M. Plasma bioactive LH and testosterone profiles in male New Zealand rabbits experimentally infected with *Schistosoma mansoni*. *Acta Trop.* 2004 Nov-Dec;92(3):165-72.
55. Saad AH, Abdelbaky A, Osman AM, Abdallah KF, Salem D. Possible role of *Schistosoma mansoni* infection in male hypogonadism. *J Egypt Soc Parasitol.* 1999 Aug;29(2):307-23.
56. Shiff CJ, Cmelik SH, Ley HE, Kriel RL. The influence of human skin lipids on the cercarial penetration responses of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni*. *J Parasitol.* 1972 Jun;58(3):476-80.
57. Naus CW, van Remoortere A, Ouma JH, Kimani G, Dunne DW, Kamerling JP, et al. Specific antibody responses to three schistosome-related carbohydrate structures in recently exposed immigrants and established residents in an area of *Schistosoma mansoni* endemicity. *Infect Immun.* 2003 Oct;71(10):5676-81.
58. Remoué F, To Van D, Schacht AM, Picquet M, Garraud O, Vercruyse J, et al. Gender-dependent specific immune response during chronic human schistosomiasis haematobia. *Clin Exp Immunol.* 2001 Apr;124(1):62-8.
59. Nakazawa M, Fantappie MR, Freeman GL Jr, Eloi-Santos S, Olsen NJ, Kovacs WJ, et al. *Schistosoma mansoni*: susceptibility differences between male and female mice can be mediated by testosterone during early infection. *Exp Parasitol.* 1997 Mar;85(3):233-40.
60. Kaper JB, Sperandio V. Bacterial cell-to-cell signaling in the gastrointestinal tract. *Infect Immun.* 2005 Jun;73(6):3197-209.
61. Dunne C. Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder. *Inflamm Bowel Dis.* 2001 May;7(2):136-45.
62. Vaughan EE, Schut F, Heilig HG, Zoetendal EG, de Vos WM, Akkermans AD. A molecular view of the intestinal ecosystem. *Curr Issues Intest Microbiol.* 2000 Mar;1(1):1-12.
63. Bourlioux P, Koletzko B, Guarner F, Braesco V. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium "The Intelligent Intestine", held in Paris, June 9-14, 2002. *Am J Clin Nutr.* 2003 Oct;78(4):675-83.
64. Nicoli JR. Normal gastrointestinal microbiota in domestic animals and human beings. *Enferm. Infec Microbiol Clin.* 1995;15:183-90.
65. McFarland LV. Normal flora: diversity and functions. *Microb Ecol Health Dis* 2000;12:193-207.
66. Barbosa FH, Martins FS, Barbosa LPJ, Nicoli J.R. Microbiota indígena do trato gastrointestinal. *Rev Biol Ciênc da Terra.* 2010;10: 78-93.
67. Janeway CA, Travers P, Walport M, et al. *Imunobiologia, o sistema imune na saúde e na doença.* 5ª ed. Artmed; 2002.
68. Steinberg SM. Bacterial translocation: what it is what it is not. *Am J Surg.* 2003 Sep;186(3):301-5.
69. Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Trends Microbiol.* 1995 Apr;3(4):149-54.
70. Rudles C, Lin DH. Nutrition and the immune system of the gut. *Nutrition.* 1998 Jul-Aug;14(7-8):573-9.
71. Brandtzaeg P. Development and basic mechanisms of human gut immunity. *Rev de Nutrição* 1998;56: p. 5-18.
72. Deitch EA. Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy. *Ann Surg.* 1992 Aug;216(2):117-34.
73. Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF. The process of microbial translocation. *Annals of Surgery* 1990; 212: 496-510.
74. Romani L. Immunity to fungal infections. *Nat Rev Immunol.* 2004 Jan;4(1):1-23.
75. Liic D. New perspectives on the immunology of chronic mucocutaneous candidiasis. *Curr Opin Infect Dis.* 2002 Apr;15(2):143-7.
76. Gianotti L, Alexander JW, Fukushima R, Childress CP. Translocation of *Candida albicans* is related to the blood flow of individual intestinal villi. *Circ Shock.* 1993 Aug;40(4):250-7.
77. Colombo AL, Branchini ML, Geiger D, Schimidt AL, Pignatari AC, Fischman O. Gastrointestinal translocation as a possible source of candidemia in an AIDS patient. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1996 May-Jun;38(3):197-200.
78. Kim AS, Garni RM, Henry-Stanley MJ, Bendel CM, Erlandsen SL, Wells CL. Hypoxia and extraintestinal dissemination of *Candida albicans* yeast forms. *Shock.* 2003 Mar;19(3):257-62.

Correspondência

Kedma de Magalhães Lima

: Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF
 Colegiado de Enfermagem - Campus Petrolina – Centro
 Av. José de Sá Maniçoba, S/N, Cx. Postal 252
 56304-205 – Petrolina, PE, Brasil

Frequência de pneumonia associada à ventilação mecânica com base em resultados de culturas quantitativas de secreções traqueais

Pneumonia frequency associated to mechanical ventilation based on crop of quantitative results of tracheal secretions

Kiara Regina Canzi¹

Jean Colacite²

Resumo

Objetivo: A pneumonia, resposta inflamatória decorrente da penetração e multiplicação descontrolada de microrganismos no trato respiratório inferior, é definida como hospitalar quando adquirida após 48 horas da presença da prótese ventilatória. Este procedimento invasivo está associado a 83% das pneumonias hospitalares. Embora a ventilação mecânica seja identificada como um fator de risco em si, a duração da ventilação é igualmente importante, com risco mais alto durante os primeiros 8-10 dias de ventilação. Bactérias causadoras de pneumonia podem originar da própria flora endógena do paciente, de outros pacientes, aparelhos hospitalares ou de fontes ambientais. **Métodos:** Para este estudo, os critérios de inclusão foram todos os pacientes admitidos na UTI com tempo de ventilação mecânica (VM) invasiva, maior que 48 horas em um Hospital na região oeste do Paraná, no período de 01 de janeiro de 2012 a 31 de dezembro de 2013, sendo 593 pacientes em 2012 e 470 pacientes atendidos na unidade em 2013. **Resultados:** No ano de 2012 foram solicitadas 199 culturas, sendo 131 positivas e 98 culturas puras, prevalecendo a *P. aeruginosa* (33,7%) como principal microrganismo isolado. No ano de 2013 foram solicitadas 319 culturas, das quais 138 foram positivas, e 123 foram culturas puras, prevalecendo também a *P. aeruginosa* (30,08%) como a principal bactéria isolada. **Conclusão:** Esses resultados sugerem que, em função da alta incidência e morbimortalidade e dos elevados custos desta infecção, estudos mais específicos e programas de controle de infecção hospitalar devem ser constantemente realizados com o objetivo de melhorar a qualidade da assistência à saúde da população.

Palavras-chave

Infecção; Pneumonia bacteriana; Pneumonia associada à ventilação mecânica

INTRODUÇÃO

Entre as infecções hospitalares, a pneumonia é a segunda causa mais comum e a primeira em pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs), representando 50% das infecções, sendo a maioria por Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAVM), em função da maior prevalência de fatores de risco tais como: população de imunocomprometidos, procedimentos invasivos, pressão seletiva de antibióticos. Até mesmo a introdução de uma prótese na traqueia compromete os mecanismos de defesa e, juntamente com a diminuição no nível de consciência do paciente, facilita a microaspiração de secreções da orofaringe para o pulmão, favorecendo o desenvolvimento de pneumonia.⁽¹⁾

A presença do tubo endotraqueal impede o fechamento da glote. Em consequência, o paciente perde o mecanismo normal de limpeza das vias aéreas, ficando impedido de tossir. Além disso, a presença do tubo aumenta a produção de secreções. Logo, a aspiração de secreção endotraqueal torna-se primordial para remover secreções e manter as vias aéreas.⁽²⁾

Esses fatores contribuem para que as UTIs sejam o epicentro da emergência e espalhamento de patógenos resistentes a antimicrobianos, resultando em alta taxa de mortalidade, prolongando o tempo de internação e custos mais elevados.⁽³⁻⁷⁾

A traqueia intubada não é um sítio estéril. A maior parte dos casos de pneumonia nosocomial é causada por bactérias e resulta da habilidade desses microrganismos de

¹Especialista em Análises Clínicas. Universidade Paranaense – UNIPAR – Umuarama, PB, Brasil.

²Mestre. Universidade Estadual de Maringá – Maringá, PR, Brasil.

Instituição: Unipar – Universidade Paranaense UNIPAR – Umuarama, PB, Brasil.

Artigo recebido em 23/04/2015

Artigo aprovado em 27/04/2016

ganhar acesso à árvore pulmonar pela aspiração a partir da orofaringe ou do conteúdo gástrico. É preocupante o fato de que o *cuff* do tubo endotraqueal não previne a passagem de bactérias para o trato respiratório inferior e pode causar pequenos traumas que favorecem a colonização bacteriana assim como diminui o reflexo da tosse e o *clearance* mucociliar.⁽⁸⁾

O diagnóstico de pneumonia é complexo e atualmente baseia-se na somatória de dados clínicos, radio-lógicos e microbiológicos, inexistindo um padrão-ouro.

Os critérios mais utilizados são presença de novo ou progressivo infiltrado em radiografia de tórax e presença de duas ou três das seguintes características clínicas: tempo >48 horas de ventilação mecânica, exames microbiológicos (>10⁵ UFC/mL na secreção traqueal), febre ou hipotermia, expectoração purulenta e leucocitose ou leucopenia.^(3,9)

A coleta de material para diagnóstico de PAV pode ser feita por meio de técnicas invasivas, como broncoscopia e lavado broncoalveolar ou técnicas não invasivas como aspirado traqueal. Estudos demonstram que as duas abordagens têm resultados semelhantes em relação à letalidade, tempo de permanência hospitalar, uso e modificação da antibioticoterapia. Ambas as técnicas devem ser feitas de forma semiquantitativa, de forma a se determinar o número de unidades formadoras de colônia (UFC) presentes em cada amostra. Como a coleta do aspirado traqueal tem maior chance de contaminação, o ponto de corte para considerar o resultado significativo deve ser superior ao do lavado broncoalveolar (10⁴ UFC/mL) ou do escovado protegido (10³ UFC/mL).⁽⁸⁾

Dentre os principais microrganismos isolados em culturas de secreções traqueais estão os bacilos Gram negativos (BGN) (*Pseudomonas* sp. e *Acinetobacter* sp.) e os cocos Gram positivos (CGP) (*Staphylococcus aureus*), sendo os BGN responsáveis por mais de 60% dos casos relatados e *S. aureus* entre 20% e 40% dos casos, em diferentes publicações.⁽⁸⁾

A incidência de infecções causadas por *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente produtora de metalo-β-lactamase está aumentando mundialmente, especialmente em pacientes críticos.⁽¹⁰⁾

Atualmente se posiciona entre as principais bactérias causadoras de infecções hospitalares. Relatos de redução da suscetibilidade da *P. aeruginosa* aos antimicrobianos vêm sendo publicados no Brasil e em outros países, destacando-se a diminuição de sensibilidade aos antibióticos de maior espectro de ação como os carbapenêmicos e as cefalosporinas antipseudomonas. Entre as mutações que acarretam aumento da resistência, a produção de enzimas betalactamases e metalo-beta-lactamases são as de maior importância e geralmente ocorrem em pacientes com maior tempo internação e uso prévio de antimicrobianos.⁽¹¹⁾

Outra característica marcante e preocupante desta espécie é a resistência cruzada aos antimicrobianos, que resulta da corresponsabilidade, ou seja, da presença de múltiplos mecanismos de resistência num único hospedeiro levando à resistência a múltiplos fármacos.⁽¹¹⁾

A importância do *Acinetobacter baumannii* tem aumentado nos últimos anos devido à sua grande capacidade em adquirir mecanismos de resistência às diferentes classes de antibióticos e à sua grande aptidão em sobreviver e se adaptar a condições adversas. Todos estes fatores tornam-no responsável por uma morbidade e mortalidade elevadas, especialmente, nos doentes críticos.^(12,13)

O gênero *Acinetobacter* consiste num bacilo Gram negativo, aeróbio estrito, não fermentador, pouco exigente, imóvel, catalase positiva e oxidase negativa.⁽¹²⁾

O *A. baumannii* pode sobreviver no ambiente hospitalar em diversos locais, uma vez que sua virulência permite a sobrevivência e adaptação do referido agente ao ambiente hospitalar, incluindo a habilidade em captar o ferro do meio ambiente, sobrevivendo assim em condições de déficit de ferro, resistência à secagem, produção de uma cápsula polissacarídica em algumas estirpes, capacidade de aderência a diferentes superfícies pela formação de biofilmes, e aderência às células do epitélio respiratório através de pili.^(12,13)

Já os *S. aureus* são bactérias que colonizam e infectam o paciente, principalmente os que permanecem internados por longo período.⁽¹⁴⁾

Os *S. aureus* são bactérias Gram positivas, esféricas, isto é, se dispõem como cacho de uva.

Para contribuir com a própria virulência, os *S. aureus* têm em sua superfície alguns componentes que produzem substâncias extracelulares, como cápsula, peptídeo-glicano, proteína A, ácidos teicoicos, fator de aglutinação.

Deve-se levar em conta que a PAV é uma afecção geralmente bilateral, e colher amostras de ambos os pulmões aumenta a chance de se diagnosticar o microrganismo envolvido na patologia.⁽⁹⁾

Antibióticos representam um item de alto consumo em hospitais, em particular em unidades de pacientes mais graves, como as UTIs. Ao contrário de outros agentes, entretanto, seu uso excessivo e desnecessário acarreta, além de aumento de risco de eventos adversos e excesso de custo, comprometimento de sua própria eficácia, em grande parte pela adaptação microbiana aos mesmos por mecanismos variados de resistência.

Estudos recentes mostram que o uso inadequado de antibióticos (uso tardio ou uso de antimicrobiano com espectro insuficiente para o agente isolado) está associado a maior mortalidade em UTI, em particular no que se refere à pneumonia associada a ventilação mecânica e bacteremias hospitalares.^(3,4)

MATERIAL E MÉTODOS

Os critérios de inclusão foram todos os pacientes admitidos na UTI com tempo de ventilação mecânica (VM) invasiva, maior que 48 horas, em um hospital na região oeste do Paraná, no período de 01 de janeiro de 2012 a 31 de dezembro de 2013.

Durante o ano de 2012 passaram pela UTI 251 mulheres (335 internações) e 342 homens (446 internações), totalizando 593 pacientes.

No período de 01 de janeiro de 2013 a 31 de dezembro de 2013 passaram pela UTI 188 mulheres (215 internações) e 282 homens (334 internações), totalizando 470 pacientes atendidos na unidade.

O diagnóstico foi baseado na radiografia de tórax com infiltrado pulmonar novo ou evolução de infiltrado existente e dois ou mais dos seguintes critérios: leucocitose ($>12.000/\text{mm}^3$) ou leucopenia ($<4.000/\text{mm}^3$), febre ($>38^\circ\text{C}$) ou hipotermia ($<35^\circ\text{C}$), e secreção traqueal purulenta.

O cultivo quantitativo do aspirado foi realizado em agar Sangue e MacConkey. As culturas foram incubadas a $37^\circ\text{C} +2^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas, para determinação do número de UFC/mL.

As colônias foram suspensas em solução salina até atingir turvação equivalente à escala 0,5 de McFarland, e semeadas com swab em agar Mueller-Hinton pela técnica de esgotamento e incubadas a $37^\circ\text{C} +2^\circ\text{C}$ por 24 horas, sendo padronizado o teste com os antibióticos amicacina, ampicilina-sulbactam, azetreo-nam, cefepime, cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacino, cloranfenicol, imipenem, ertapenem, meropenem, piperaciclina-tazobactam, polimixina b, sulfametoxazol-trimetoprim.

RESULTADOS

Dados mais recentes sobre microbiologia das PAVs mostram que os bacilos Gram negativos (BGN), como *A. baumannii* e *P. aeruginosa* são predominantes principalmente nos países em desenvolvimento e no presente estudo, mas também em hospitais da América do Norte e Europa.

A frequência de *Acinetobacter* multiresistente (MR) aumentou durante as últimas duas décadas nos hospitais, sobretudo como consequência do amplo uso de agentes antimicrobianos potentes de amplo espectro. Em alguns hospitais brasileiros amostras já apresentam taxas de resistência aos carbapenêmicos oscilando de 25% a 45% e, conseqüentemente, as polimixinas são amplamente utilizadas, apesar de sua toxicidade. Há relatos de amostras pan-resistentes, com mecanismos de resistência para as várias classes de antibióticos disponíveis, fazendo necessária uma combinação terapêutica no tratamento de infecções graves.^(5,15)

No ano de 2012 foram solicitadas 199 culturas, sendo 131 positivas, e 98 culturas puras (Tabela 1), ou seja, desenvolvimento de apenas um microrganismo seguido de antibiograma, prevalecendo a *P. aeruginosa* (33,7%) como principal microrganismo isolado.

Tabela 1- Incidência de microrganismos no ano de 2012

Microrganismos	%	n
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33,67	33
<i>Acinetobacter baumannii</i>	22,44	22
BGN*	16,32	16
<i>Escherichia coli</i>	7,14	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,12	6
<i>Klebsiella</i> sp.	5,1	5
<i>Enterobacter cloacae</i>	4,08	4
<i>Serratia</i> sp.	2,04	2
<i>Citrobacter</i> sp.	2,04	2
<i>Aeromonas</i> sp.	1,02	1
Total	100%	98

No ano de 2013 foram solicitadas 319 culturas, das quais 138 foram positivas, e 123 foram culturas puras, prevalecendo a bactéria *P. aeruginosa* (30,08%) conforme Tabela 2, como a principal bactéria isolada.

Os principais microrganismos isolados no aspirado traqueal dos pacientes com PAV nos anos de 2012 e 2013 foram: *Pseudomonas aeruginosa* (33,67%; 30,08%), *Acinetobacter baumannii* (22,44%; 0,81%), BGN (16,32%; 23,57%) respectivamente.

Segundo Moraes et al.,⁽¹⁶⁾ as bactérias mais comuns em pneumonias nosocomiais são enterobactérias Gram negativas e *S. aureus*. Quando associada a ventilação mecânica, a etiologia é polimicrobiana, porém é mais comum

Tabela 2 - Dados de 2013 sobre a incidência de microrganismos.

Microrganismo	%	n
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30,08	37
BGN	23,57	29
<i>Klebsiella</i> sp.	20,32	25
<i>Serratia</i> sp.	7,31	9
<i>Escherichia coli</i>	6,5	8
<i>Enterobacter cloacae</i>	3,25	4
<i>Aeromonas</i> sp.	2,43	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,62	2
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,81	1
<i>Citrobacter</i> sp.	0,81	1
<i>Burkholderia cepacia</i>	0,81	1
<i>Streptococcus grupo viridans</i>	0,81	1
<i>Providencia</i> sp.	0,81	1
<i>Hafnia</i> sp.	0,81	1
Total	100%	123

após 72 horas de intubação orotraqueal e frequentemente associada a bactérias multirresistentes, corroborando com os achados no presente estudo.

Na comparação das características gerais dos pacientes em relação ao desfecho não foi observada diferença significativa em relação ao sexo, internamento prévio e tipo de paciente.

Os fatores que predispoem à infecção hospitalar pelo *Acinetobacter* são: um índice de severidade da doença APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II*) elevado, prematuridade, idade avançada, colonização pelo *Acinetobacter*, procedimentos invasivos (cirurgia, cateteres venosos, traqueostomia) e doenças subjacentes (neoplasias, imunossupressão, queimaduras e doença pulmonar crônica). A pneumonia pelo *Acinetobacter* está associada a uma mortalidade elevada variando entre 35% a 75%. A presença de hemoculturas positivas e sinais de sepsis são indicadores sensíveis de mau prognóstico.⁽¹²⁾

A escolha inicial do esquema antimicrobiano empírico do tratamento da PAVM é de importância crítica na determinação da evolução clínica, particularmente no tocante à mortalidade. A terapêutica precoce, agressiva e com antibióticos de amplo espectro dirigida contra os microrganismos mais prováveis, baseados em dados locais de vigilância, está relacionada à redução nas taxas de mortalidade.⁽³⁾

CONCLUSÃO

Uma estratégia preventiva das PAV é a redução do tempo de exposição à ventilação mecânica, implantando protocolos e sedação que facilitem o desmame da mesma. Instituir e seguir protocolos de desmame precoce com o intuito de reduzir taxas de PAV. Dar preferência à intubação orotraqueal em vez de intubação nasotraqueal pelo risco de desenvolvimento de sinusite nosocomial e a possibilidade de levar a PAV, embora esta causalidade não esteja tão bem estabelecida.⁽¹⁷⁾

Esses resultados sugerem que, em função da alta incidência e morbimortalidade e dos elevados custos desta infecção, estudos mais específicos e programas de controle de infecção hospitalar devem ser constantemente realizados com o objetivo de melhorar a qualidade da assistência à saúde da população.

Abstract

Objective: *Pneumonia, inflammatory response resulting from penetration and uncontrolled multiplication of microorganisms in the lower respiratory tract, is defined as hospital acquired after 48 hours when the presence of Mechanical ventilation. This invasive procedure is associated with 83% of hospital pneumonia. Although ventilation is identified as a risk factor in itself, the duration of ventilation is also important, with the highest risk during the first 8-10 days of ventilation. Bacteria causing pneumonia can be caused by the patient's own endogenous flora, other patients,*

hospital equipment or environmental sources. Methods: For this study, the inclusion criteria were all patients admitted to the Intensive Care Unit with mechanical ventilation, more than 48 hours in a hospital in western Paraná, in the period from January 1st 2012 to December 31 2013. **Results:** With 593 patients in 2012 and 470 patients treated at the unit in 2013. In 2012 it was requested 199 cultures, with 131 positive and 98 pure cultures, prevailing *P. aeruginosa* (33.7%) as the main microorganism isolated. In 2013 it was requested 319 cultures, of which 138 were positive and 123 were pure cultures, also prevailing *P. aeruginosa* (30.08%) as the main bacteria isolated. **Conclusion:** These results suggest that, due to the high incidence and mortality and high costs of this infection, more specific studies and hospital infection control programs should be constantly carried out in order to improve the quality of health care of the population.

Keywords

Pulmonary ventilation; Pneumonia, bacterial; Pneumonia, Pneumococcal

REFERÊNCIAS

1. Teixeira PJZ, Hertz FT, Cruz DB, et al. Pneumonia associada à ventilação mecânica: impacto da multirresistência bacteriana na morbidade e mortalidade. *J Bras Pneumol.* 2004;30(6):540-48.
2. Martins JJ, Maestri E, Dogenski D, Nascimento ERP, Silva RM, Gama FO. Necessidade de aspiração de secreção endotraqueal: critérios utilizados por uma equipe de enfermagem de uma unidade de terapia intensiva. *Cienc Cuid Saude* 2008 Out/Dez;7(4):517-22.
3. Moreira MR. Consumo de antibióticos, fatores de risco e evolução de pneumonia associada a ventilação por *Staphylococcus aureus* sensível ou resistente à oxacilina em pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva de adultos de um hospital Universitário Brasileiro. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2008.
4. Camargo LFA. Controle de antibióticos: mais que retórica, necessidade baseada em evidências. *Einstein.* 2003;1:135-6.
5. Royer S. Epidemiologia clássica e molecular de pneumonias associadas à ventilação mecânica por *Acinetobacter baumannii* resistentes/susceptível ao imipenem em pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva de adultos de um hospital Universitário Brasileiro. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2008.
6. Garcia JCP, Ferreira Filho OF, Grion CMC, Carrilho CM. Impacto da implantação de um guia terapêutico para o tratamento de pneumonia nosocomial adquirida na unidade de terapia intensiva em hospital universitário. *J. bras. pneumol.* [online]. 2007;33 (2): 175-84. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132007000200012>.
7. Carvalho CE, Berezin EM, Pistelli I.P, Mímica L, Cardoso MR. Monitoramento microbiológico sequencial da secreção traqueal em pacientes intubados internados em unidade de terapia intensiva pediátrica. *Jornal de Pediatria.* 2005;81(1):29-33.
8. Vilela CAP, Rocha LA, Cesário R, et al. Estudo caso X controle de pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) em unidade de terapia intensiva (UTI) de adultos de um Hospital Universitário Brasileiro. Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, 2005.
9. Diament D, Salomão R, Rigatto O, Gomes B, Silva E, Carvalho NB, et al. Diretrizes para tratamento da sepse grave/choque séptico: abordagem do agente infeccioso - diagnóstico. *Rev. bras. ter. intensiva.* 2011;23(2):134-44.
10. Rodrigues DO. Pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV) por *Pseudomonas aeruginosa* em Unidade de Terapia Intensiva (UTI): aspectos epidemiológicos e moleculares de amostras produtoras de metalo- β -lactamases. 2010. 80 f. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/123456789/2793>

11. Pessoa de Figueiredo EA, Ramos H, Maciel MAV, Vilar MC, 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 Outubro-Dezembro;19(4):421-7.
12. Silva RNP. A Importância do Acinetobacter baumannii na infecção adquirida nos cuidados de saúde. Universidade do Porto, Junho 2009.
13. Medeiros F, Yabumoto R, Motta F. Fatores de mortalidade em pacientes de UTI de trauma de um hospital terciário de referência colonizados e/ou infectados por Acinetobacter baumannii. Newslab. 2007.
- 14) Davis Fm, Conere B. Bacterial contamination of radial artery catheters. N.Z.Med.J. 1979; 2(13): 703-4.
15. Duarte PAD, Venazzi A, Osaku EF, Miúra CK, Schiavetto PM, Costa CR, et al. Epidemiologia, estratégias e evolução de pacientes submetidos à ventilação mecânica. Rev Bras Clin Med. São Paulo, 2012 jul-ago;10(4):302-7.
16. Moraes AAP, Santos RLD. Infecções em UTI Geral de um Hospital Universitário. Rev. bras. ter. intensiva. 2003 Out/Dez; 15(4).
17. Diretrizes sobre Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAV). Sociedade Paulista de Infectologia. Office Editora e Publicidade Ltda. São Paulo, SP.

Correspondência

Kiara Regina Canzi

*Avenida Parigot de Souza 3636 – Jardim Santa Maria
Toledo – PR, Brasil*

Avaliação dos níveis de EC-SOD em voluntários utilizando o método de inibição da auto-oxidação da adrenalina

Assessment levels EC-SOD in volunteers using inhibition of epinephrine oxidation method

Fernanda Dapper Machado¹

César Augusto Miorelli Campos²

Tamiris Priscila Vingert³

Ana Luiza Ziulkoski⁴

Magda Susana Perassolo⁴

Resumo

Objetivo: Avaliar os níveis de EC-SOD em voluntários através do método de inibição da auto-oxidação da adrenalina e correlacionar com as características clínicas, bem como comparar com os resultados obtidos com o método de redução do WST-1. **Métodos:** Foram avaliados os níveis de SOD de 63 voluntários através do método de inibição da auto-oxidação da adrenalina e de redução do WST-1. **Resultados:** Não houve correlação entre os níveis de SOD com a idade ou sexo dos voluntários, porém o nível de SOD foi maior nos voluntários que utilizavam uma quantidade maior de medicamentos por dia. **Conclusão:** Não houve correlação entre os dois métodos de quantificação de SOD.

Palavras-chave

Estresse oxidativo; Epinefrina; Superóxido dismutase

INTRODUÇÃO

O desequilíbrio entre espécies reativas de oxigênio (ROS) e os antioxidantes do organismo, em decorrência de fatores como alimentação inadequada e sedentarismo, pode levar a uma condição chamada de estresse oxidativo (EO). O EO é um dos fatores desencadeantes de condições patológicas, como doenças cardiovasculares, desordens neurológicas, doenças pulmonares e envelhecimento precoce.^(1,2)

A defesa enzimática do organismo para as ROS são as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), entre outras enzimas redutoras. A SOD é conhecida como a primeira linha de defesa, catalisando a dismutação do ânio superóxido em peróxido de hidrogênio, posteriormente transformado em água e oxigênio pela CAT, GPx ou outras.⁽¹⁾

Nos organismos eucariotos podemos encontrar duas formas intracelulares da SOD: a Cu-Zn-SOD e a Mn-SOD (encontrada principalmente na matriz mitocondrial), além da forma extracelular da enzima, a EC-SOD.⁽³⁾ A presença de SOD em diferentes compartimentos é importante devido à incapacidade do superóxido de permear membranas e, portanto, necessitar ser eliminado no mesmo compartimento em que foi formado.⁽⁴⁾

A superóxido dismutase extracelular (SOD; EC 1.15.1.1) (EC-SOD ou SOD-3) controla o nível de superóxido no espaço extracelular, catalisando a dismutação do superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular. Além disso, a EC-SOD pode reagir com o peróxido de hidrogênio em uma reação peroxidase, a qual é conhecida por descontinuar sua atividade – podendo ser esse o mecanismo de controle da atividade enzimática. É expressa, principalmente, no pulmão e na musculatura vascular, mas também no coração, rins e placenta.⁽⁴⁻⁷⁾

Existem diferentes métodos para a quantificação ou determinação da atividade da EC-SOD, entre eles o método desenvolvido por Misra e Fridovich, em 1972,⁽⁷⁾ baseado na capacidade da enzima em inibir a auto-oxidação da adrenalina. Apesar da existência de técnicas mais modernas, alguns trabalhos ainda utilizam o método baseado na auto-oxidação da adrenalina, como o desenvolvido por Dries, em 2011,⁽⁸⁾ e por Soares, em 2012,⁽⁹⁾ sobretudo em razão do baixo custo da análise.

Zhou e Prognon⁽¹⁰⁾ acreditam que haverá um crescimento do interesse no campo das determinações enzimáticas, sobretudo em relação às antioxidantes e antiestresse, o que aumenta a necessidade de conhecimento dos níveis de SOD e outras enzimas antioxidantes

¹Farmacêutica. Bacharel em Farmácia/Universidade Feevale – Novo Hamburgo, RS, Brasil.

²Bolsista de Iniciação Científica/Universidade Feevale – Novo Hamburgo, RS, Brasil.

³Bacharel em Farmácia/Universidade Feevale – Novo Hamburgo, RS, Brasil.

⁴Doutora/Universidade Feevale – Novo Hamburgo, RS, Brasil.

Instituição: Universidade Feevale – Novo Hamburgo, RS, Brasil.

Suporte Financeiro: Universidade Feevale e Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS)

Artigo recebido em 17/07/2014

Artigo aprovado em 01/02/2016

na população e confirmam que estudos nesta área são fundamentais. Para se ter um entendimento a respeito dos processos redutores é necessário contar com informações quantitativas da geração e remoção de superóxido e peróxido de hidrogênio em células e tecidos.⁽¹¹⁾

Alguns estudos sugerem que o estresse oxidativo ou a diminuição da proteção antioxidante estão relacionados com o avanço e a patologia de várias doenças, entre elas a esquizofrenia, a diabetes melito tipo 2, onde, além da diminuição dos níveis de SOD, ocorre a glicação da enzima ligada aos eritrócitos, levando a uma baixa atividade enzimática.^(12,13)

A comparação entre os resultados de SOD obtidos por diferentes métodos é uma tarefa difícil, uma vez que pequenas alterações nas condições do ensaio levam a grandes diferenças no resultado.⁽¹⁰⁾ A escassez de estudos populacionais que apontem o nível de SOD no plasma humano dificulta a comparação de resultados obtidos em diferentes populações. Diante do exposto, evidencia-se a importância deste trabalho, que pretende avaliar os níveis de SOD em um grupo de voluntários pelo método de inibição da auto-oxidação da adrenalina e relacioná-lo com as características clínicas, além de comparar com o método de redução do WST-1.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado com 63 participantes do projeto de pesquisa "Avaliação da relação entre qualidade de vida e estresse oxidativo em pacientes com diabetes melito tipo 2". Foram excluídos do estudo voluntários com doenças hepáticas ou renais. As análises laboratoriais, como glicose, glicohemoglobina, perfil lipídico e hemograma foram realizadas pelo Laboratório Escola de Biomedicina da Universidade Feevale. As características gerais e clínicas dos voluntários, como idade, sexo, tabagismo, patologias, consumo de medicamentos e alimentos antioxidantes, foram obtidas por meio de questionário próprio. As amostras de plasma para quantificação de EC-SOD foram armazenadas em temperatura de -80°C até o momento da análise.

Quantificação pelo método da auto-oxidação da adrenalina

Para a quantificação da SOD por meio do método baseado na inibição da auto-oxidação da adrenalina, as amostras foram diluídas em soro fisiológico, na proporção 1:10 (v/v), e quantidades crescentes do diluído (10, 15, 20, 25 e 30 ul) acrescidas de tampão glicina pH 10,2 a 32°C, solução de catalase e solução ácida de adrenalina; foram lidas em espectrofotômetro Varian, modelo Dig Varian Cary (50 NSEL03127475) no comprimento de onda de 480 nm durante 180 segundos, com intervalo de leitura de dez segun-

dos, de acordo com a metodologia descrita por Misra e Fridovich.⁽⁷⁾ A curva resultante desta leitura foi comparada com a curva de oxidação da adrenalina obtida no mesmo dia da análise, sob as mesmas condições da amostra através de uma planilha do Microsoft Excel. O resultado final foi obtido por meio de cálculos baseados em regressões lineares e o valor resultante foi corrigido pelas proteínas totais obtendo-se um resultado expresso em g SOD/g proteína.

A dosagem de proteínas totais foi realizada por meio de kit comercial baseado no método do biureto.

Quantificação de SOD pelo método de redução do WST-1

A quantificação pelo método de redução do WST-1 foi realizada utilizando-se o SOD Assay Kit-WST produzido pela Sigma Aldrich, que é baseado no método nitrozol tetrazólio (NBT). Trata-se de um método indireto, no qual a quantificação se dá por percentual de inibição de SOD por um método colorimétrico com leitura a 440 nm.

As amostras foram preparadas em placas com 96 poços; 20 ul de amostra foram adicionados no poço de amostra e no poço Branco 2. Água duplamente destilada foi adicionada no poço Branco 1 e Branco 3; 200 ul da solução de trabalho WST foram acrescentados em todos os poços. O tampão diluente foi adicionado nos poços Branco 2 e Branco 3 e a solução de trabalho da enzima foi adicionada nos poços contendo amostra e Branco 1. A placa foi incubada a 37°C por vinte minutos para posterior leitura a 450 nm.⁽¹⁴⁾ O resultado foi obtido em atividade de SOD (% de inibição).

Os dados resultantes das análises e os dados clínicos dos pacientes foram armazenados em um banco de dados desenvolvido com o programa Microsoft Office Excel.

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa SPSS, versão 20.0, utilizando nível de significância de 5%. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão ou frequência. Para a análise estatística foi testada a normalidade das variáveis. As variáveis paramétricas tiveram a relação avaliada pela correlação de Pearson, e as não paramétricas, pela correlação de Spearman. A comparação das médias entre os grupos foi realizada por meio de ANOVA.

Aspectos éticos

Este trabalho está inserido no projeto de pesquisa "Avaliação da relação entre qualidade de vida e estresse oxidativo em pacientes com diabetes melito tipo 2", aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Feevale sob o número de processo 4.03.01.11.1981. Os

participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido em duas vias, ficando uma com o pesquisador e outra com o voluntário. O estudo foi conduzido de acordo com a Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.⁽¹⁵⁾

RESULTADOS

Características gerais da amostra

As características gerais dos voluntários que compõem o perfil da amostra, como sexo, escolaridade e tabagismo, estão descritos na Tabela 1. A maioria dos voluntários foi mulheres (71,4%), com escolaridade de ensino fundamental incompleto, com patologias diversas; entre as mais frequentes estão diabetes, hipertensão, hipercolesterolemia e depressão.

Tabela 1 - Características gerais dos voluntários

Característica	Frequência (n=63)
Idade (média e desvio padrão)	57,3 (10,7)
Sexo (M)	18 (28,6%)
Escolaridade	
Fundamental incompleto	27 (42,9%)
Fundamental completo	10 (15,9%)
Médio incompleto	6 (9,5%)
Médio completo	8 (12,7%)
Superior incompleto	3 (4,8%)
Superior completo	9 (14,3%)
Patologias	
Hipertensão	29 (46%)
Diabetes	14 (22,2%)
Hipercolesterolemia	13 (20,6%)
Depressão	9 (14,3%)
Artrose	6 (9,5%)
Gastrite	5 (7,9%)
Distúrbios do sono	5 (7,9%)
Glaucoma	2 (3,2%)
Osteopenia	4 (6,3%)
Osteoporose	4 (6,3%)
Problemas na tireoide	3 (4,8%)
Fibromialgia	3 (4,8%)
Artrite reumatoide	3 (4,8%)
Arritmia	2 (3,2%)
Outras *	8 (12,7%)
Tabagismo	
Fumante	5 (7,9%)
Ex-fumante	8 (12,7%)
Não fumante	50 (79,4%)
* Bursite, tendinite, convulsão, dor articular, asma, cardiopatia, transtorno bipolar, osteoartrite	1 (1,6%).

As informações laboratoriais, como perfil lipídico, glicemia, glicohemoglobina e hemograma dos voluntários encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Características laboratoriais dos voluntários

Características laboratoriais	Média e desvio padrão (n=63)
Colesterol (mg/dL)	172 (41)
LDL (mg/ dL)	102 (42)
HDL (mg/ dL)	45 (12)
Triglicerídeos (mg/ dL)	128 (69)
Glicemia (mg/ dL)	95 (25)
Glicohemoglobina (%)	6,2 (1,0)
Eritrócitos (x10 ⁶ /L)	4,6 (0,4)
Hemoglobina (g/ dL)	14,0 (1,2)
Hematócrito (%)	40,3 (3,0)
VCM (fL)	86,7 (4,4)
HCM (pg)	30,2 (1,9)
CHCM (g/ dL)	34,8 (1,0)
RDW (%)	12,6 (1,2)
Leucócitos (/mL)	6.215,2 (2.287,7)
Bastões (%)	0,3 (0,6)
Segmentados (%)	57,6 (8,6)
Eosinófilos (%)	2,9 (2,1)
Basófilos (%)	0,3 (0,5)
Monócitos (%)	6,5 (2,8)
Lintócitos (%)	32,3 (8,2)
Plaquetas (/L)	233.084 (62.900)

Resultados SOD

Foram analisados os níveis de SOD conforme faixa etária. Observa-se, apesar da SOD cair com o passar da idade, que não foram encontradas diferenças estatísticas nestes valores entre as diferentes faixas etárias ($p=0,405$) (Tabela 3). Apesar dos valores de SOD entre homens e mulheres serem diferentes, esta diferença não foi significativa ($p=0,817$). Nos homens, a média de SOD foi de 3,57 (9,7) g SOD/g proteína e, nas mulheres, foi 3,89 (11,5) g SOD/g proteína.

Tabela 3 - Média de SOD de acordo com a idade

Idade (anos)	Média SOD (g SOD/g proteína)	Média SOD WST-1 (% inibição SOD)
< 40 (n=4)	11,91 (18,75)	0,6919 (0,12)
41 - 45 (n=5)	8,59 (17,70)	0,5431 (0,69)
46 - 50 (n=9)	6,01 (11,01)	0,3889 (0,62)
51 - 55 (n=8)	2,35 (4,22)	0,7044 (0,11)
56 - 60 (n=11)	1,96 (1,45)	0,6227 (0,47)
61 - 65 (n=7)	-2,77 (12,09)	0,4265 (0,71)
65 - 70 (n=11)	5,86 (15,60)	0,6617 (0,16)
> 71 (n=7)	0,77 (3,52)	0,7705 (3,89)

Há correlação entre os níveis de SOD e a quantidade de medicamentos utilizada diariamente ($r=0,293$; $p=0,021$). E uma tendência à correlação entre o consumo semana de tomate com os níveis de SOD ($r=0,239$; $p=0,061$).

Na correlação de Pearson, comparando os dois métodos de detecção da SOD, o resultado não foi significativo ($r=0,103$; $p=0,429$).

DISCUSSÃO

Apesar da literatura apontar níveis aumentados de SOD em mulheres em relação aos níveis encontrados em homens, como o estudo de Bolzán, Bianchi e Bianchi⁽¹⁶⁾ e Malling et al.,⁽¹⁷⁾ esta diferença não foi observada no presente estudo. O número reduzido de homens em relação às mulheres entre os voluntários pode ter impedido a observação de alteração significativa nos níveis de SOD entre os dois grupos.

Existe relação entre o nível de estrogênio circulante e as condições antioxidantes, incluindo a produção enzimática. O envelhecimento ovariano ocorre gradualmente, diminuindo os níveis de estrogênio e os níveis das enzimas antioxidantes por consequência.^(18,19) Portanto, a falta de diferença entre os níveis de SOD em homens e mulheres pode ser explicada pela idade da amostra, com mulheres já em menopausa e com diminuição dos níveis de estrogênio.

A produção e atividade da SOD estão ligadas a características genéticas, como aponta estudo realizado com japoneses, que distingue a população em dois grupos: um com baixos níveis plasmáticos de SOD (aproximadamente 94%) e outro com níveis elevados (6%). Outro estudo semelhante, agora com suecos, demonstra que mutações na ligação da enzima com a heparina podem resultar em aumento dos níveis plasmáticos da EC-SOD, apesar das consequências dessa mutação ainda não estarem esclarecidas.⁽³⁾

Há uma tendência à diminuição da atividade da EC-SOD a partir dos 28 anos de idade, devido à inativação enzimática pelo peróxido de hidrogênio.⁽¹⁶⁾ A amostra foi composta por voluntários com idade média de 57,3^(7,10) anos, sendo todos acima de 35 anos. Portanto, a falta de correlação entre idade e SOD encontrada neste estudo pode ser explicada pela idade dos voluntários, uma vez que o período de mudanças nas concentrações da enzima já teria iniciado.

Os voluntários participantes deste estudo são, em sua maioria, portadores de alguma patologia; algumas delas têm relação direta com o estresse oxidativo ou a produção e atividade da SOD. Entre elas, a diabetes melito tipo 2 e a hipercolesterolemia (como precursora da aterosclerose). Isso causa alterações nos níveis de EC-SOD detectados, podendo levar à falta de correlação com alguns parâmetros, como idade e sexo.^(20,3)

Níveis elevados de EC-SOD estão relacionados com fatores de risco cardiovascular, síndrome coronariana aguda, hipertensão, diabetes melito, lesões isquêmicas, doenças pulmonares, doenças neurológicas e inflamatórias.⁽²¹⁾

Entretanto, o comportamento da SOD frente à diabetes melito tipo 2 não está completamente esclarecido, uma vez que tanto o aumento como a diminuição da atividade enzimática são relatados. Sabe-se que a patologia da doença, no que se refere à resistência à insulina e intolerância à glicose, responsáveis pelo desenvolvimento da diabetes melito tipo 2, são mediadas pelo estresse oxidativo; bem como as complicações vasculares e ateroscleróticas associadas ao avanço da doença. Os níveis de EC-SOD também estão relacionados com o índice de massa corporal e índice de avaliação de resistência à insulina.^(20,22,23)

Em estudo realizado com pacientes diabéticos, Bandeira et al.⁽²⁰⁾ encontraram valores de SOD aumentados principalmente em pacientes com alta peroxidação lipídica. O aumento de SOD na presença do dano oxidativo pode ser explicado como uma resposta adaptativa do organismo contra o estresse oxidativo. Todavia, Ghattas e Abo-Emalty⁽²²⁾ encontraram níveis de SOD diminuídos para pacientes com diabetes melito tipo 2, o que pode ser consequência do nível elevado de peróxido de hidrogênio.

O tabagismo está associado a baixos níveis de SOD.⁽²⁴⁾ Por ser um grande formador de radicais livres, o álcool também está associado ao estresse oxidativo e alterações nos níveis das enzimas antioxidantes.⁽²⁵⁾

O estresse oxidativo implica na patogênese da aterosclerose e alguns antioxidantes têm demonstrado inibir o processo de aterogênese. Alguns estudos indicam o aumento na produção de superóxido em vasos ateroscleróticos, podendo interferir no tônus vascular. Por outro lado, a expressão de EC-SOD é reduzida em pacientes com doença arterial coronariana, contribuindo com a disfunção endotelial nestes pacientes. Já em indivíduos hipercolesterêmicos, a atividade da EC-SOD é aumentada, em uma possível tentativa do organismo em combater a disfunção endotelial. Essa superexpressão de SOD pode proteger contra a oxidação do LDL, grande contribuidor da formação da placa aterosclerótica.⁽³⁾

Alguns fatores relacionados a medicamentos, principalmente à sua toxicidade, incluem a formação de metabólitos reativos, capazes de se ligarem covalentemente a proteínas e à geração do estresse oxidativo. Estes fatores podem ser aumentados pelo consumo concomitante de dois ou mais medicamentos.⁽²⁶⁾ A relação existente entre a quantidade diária de medicamentos e os níveis de SOD observada neste estudo pode ser explicada pela produção de superóxido durante a metabolização destas substâncias, tendo a produção da SOD como resposta adaptativa do organismo.

O tomate é um dos principais alimentos antioxidantes,⁽²⁷⁾ todavia não existem relatos na literatura de qualquer relação do consumo de tomate com os níveis plasmáticos da EC-SOD.

O método da adrenalina nos fornece resultados em g SOD/g proteína, enquanto que o método do WST-1 o faz por percentual de inibição da SOD, quantificando a atividade enzimática. Esta pode ter sido a principal causa da não correlação entre os métodos apresentada neste estudo.^(7,14)

Outras diferenças podem ter contribuído para a falta de correlação entre os resultados. Enquanto o método da adrenalina utiliza o adrenocromo para a quantificação de SOD, o método comercializado pela Sigma Aldrich (R) utiliza a formação do corante formazan, usando o WST-1 como componente cromóforo. Outro fator contribuinte é o fato do método de inibição da auto-oxidação da adrenalina necessitar acompanhamento constante de temperatura (32°C) e pH do tampão,^(2,10) e quaisquer intercorrências nessas medidas podem prejudicar a execução da análise.^(7,10,14)

Outros estudos de comparação de métodos para a quantificação de SOD já foram realizados, como o de Zhou e Prognon,⁽¹⁰⁾ que testaram dois métodos enzimáticos para a determinação de SOD em matérias primas: o método referência NBT e o método WST-1. Seus resultados demonstraram que a qualidade dos resultados depende de pequenas variações nas condições experimentais. Os resultados extremamente semelhantes entre os métodos devem-se, principalmente, ao fato de ambos serem baseados no mesmo princípio.

CONCLUSÕES

Os níveis de EC-SOD sofrem influências genéticas e do meio, como consumo de medicamentos e alimentos antioxidantes. Para determinar a relação entre sexo, idade e SOD seriam necessários novos estudos, com maior número amostral. Não há correlação entre os métodos avaliados.

Desta forma, são necessários mais estudos populacionais que permitam traçar o perfil de SOD da população. Para isso, é interessante que se relacione a SOD com marcadores de peroxidação lipídica, como o MDA, e se obtenham as características genéticas para que, posteriormente, possa-se traçar o perfil de SOD para as diversas patologias a ela associadas.

Estudos no campo do estresse oxidativo e das defesas antioxidantes são extremamente necessários principalmente por causa do papel desempenhado pelo estresse oxidativo no avanço e patologia de inúmeras doenças. Neste estudo, não foi encontrada nenhuma correlação entre a atividade de SOD e fatores como idade ou sexo, porém é necessário que os níveis enzimáticos estejam bem esclarecidos.

Abstract

Objective: This study aim is evaluate EC-SOD levels by epinephrine auto oxidation method of volunteers and correlate it with clinical condition, as well as compare with WST-1 method results. **Methods:** It was assessment 63 volunteers SOD levels with inhibition of epinephrine oxidation method and the WST-1 reduction method. **Results:** There was no correlation between SOD levels and volunteer's age or sex, but the SOD levels was higher on volunteers that was using more medicines per day. **Conclusion:** There was no correlation between the two measurement SOD methods.

Keywords

Oxidative stress; Epinephrine; Superoxide dismutase

REFERÊNCIAS

- Acharya JD, Ghaskadbi SS. Islets and their antioxidant defense. *Islets*. 2010 Jul-Aug;2(4):225-35.
- Rosanna DP, Salvatore C. Reactive oxygen species, inflammation, and lung diseases. *Curr Pharm Des*. 2012;18(26):3889-900.
- Fattman CL, Schaefer LM, Oury TD. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radic Biol Med*. 2003 Aug 1;35(3):236-56.
- Bafana A1, Dutt S, Kumar S, Ahuja PS. Superoxide dismutase: an industrial perspective. *Crit Rev Biotechnol*. 2011 Mar;31(1):65-76
- Gottfredsen RH, Larsen UG, Enghild JJ, Petersen SV. Hydrogen peroxide induce modifications of human extracellular superoxide dismutase that results in enzyme inhibition. *Redox Biol*. 2013 Jan 11;1:24-31.
- Nozik-Grayck E, Suliman HB, Piantadosi CA. Molecules in focus: Extracellular superoxide dismutase. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005 Dec;37(12):2466-71.
- Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 1972 May 25;247(10):3170-5.
- Dries SS. Estresse oxidativo em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 em tratamento com metformina (TCC). Curso de Ciências Farmacêuticas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Feevale, Novo Hamburgo, 2011. Disponível em: <http://ebooks.pucrs.br/edipucrs/anais/seminarioic/20112/4/3/2/2.pdf>
- Soares BS. Influência do tratamento farmacológica com metformina e glibenclâmida sobre o estresse oxidativo em pacientes com diabetes mellitus tipo 2. (TCC) Faculdade de Farmácia, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Feevale, Novo Hamburgo, 2012.
- Zhou JY, Prognon P. Raw material enzymatic activity determination: a specific case for validation and comparison of analytical methods—the example of superoxide dismutase (SOD). *J Pharm Biomed Anal*. 2006 Mar 18;40(5):1143-8.
- Wagner BA, Witmer JR, van 't Erve TJ, Buettner GR. An assay for the rate of removal of extracellular hydrogen peroxide by cells. *Redox Biol*. 2013;1(1):210-7.
- Bhatia S, Shukla R, Venkata Madhu S, Kaur Gambhir J, Madhava Prabhu K. Antioxidant status, lipid peroxidation and nitric oxide and products in patients of type 2 diabetes mellitus with nephropathy. *Clin Biochem*. 2003 Oct;36(7):557-62.
- Wu JQ, Kosten TR, Zhang XY. Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013 Oct 1;46:200-6.
- Sigma Aldrich. 19160 SOD determination kit. Suíça, outubro, 2004.
- Brasil, Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466 de 12 de dezembro de 2012. Aprova as diretrizes e normas de pesquisas envolvendo seres humanos. 1996.
- Bolzán AD, Bianchi MS, Bianchi NO. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in human blood: influence of sex, age and cigarette smoking. *Clin Biochem*. 1997 Aug;30(6):449-54.

17. Malling TH, Sigsgaard T, Andersen HR, Deguchi Y, Brandslund I, Skadhauge L, et al. Differences in association between markers of antioxidative defense and asthma are sex specific. *Gend Med*. 2010 Apr;7(2):115-24
18. Bellanti F, Matteo M, Rollo T, De Rosario F, Greco P, Vendemiale G, et al. Sex hormones modulate circulating antioxidant enzymes: impact of estrogen therapy. *Redox Biol*. 2013 Jun 19;1:340-6.
19. Pejić SA, Kasapović JD, Todorović AU, Stojiljković VR, Gavrilović LV, Popović NM, et al. Antioxidant enzymes in women with endometrial polyps: relation with sex hormones. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013 Sep;170(1):241-6.
20. Bandeira Sde M, Guedes Gda S, da Fonseca LJ, Pires AS, Gelain DP, Moreira JC, et al. Characterization of blood oxidative stress in type 2 diabetes mellitus patients: increase in lipid peroxidation and SOD activity. *Oxid Med Cell Longev*. 2012;2012:819310.
21. Grammer TB, Renner W, Hoffmann MM, Kleber M, Winkelhofer-Roob BM, et al. SOD 2 R231G polymorphism associated with coronary artery disease and myocardial infarction. The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *Free Radic Res*. 2009 Jul;43(7):677-84.
22. Ghattas MH, Abo-Elmatty DM. Association of polymorphic markers of the catalase and superoxide dismutase genes with type 2 diabetes mellitus. *DNA Cell Biol*. 2012 Nov;31(11):1598-603.
23. Kamiya T1, Hara H, Inagaki N, Adachi T. The effect of hypoxia mimetic cobalto chloride on the expression. of EC-SOD in 3T3-L1 adipocytes. *Redox Rep*. 2010;15(3):131-7.
24. Naga Sirisha CV, Manohar RM. Study of antioxidant enzymes superoxide dismutase and glutathione peroxidase level in tobacco chewers and smoker: a pilot study. *J Cancer Res Ther*. 2013 Apr-Jun;9(2):210-4.
25. Yao P, Li K, Jin Y, Song F, Zhou S, Sun X, Nüssler A, Liu L. Oxidative damage after chronic ethanol intake in rat tissues: prophylaxis of Ginkgo biloba extract. *Food Chemistry*. 2006;99:305-14.
26. Ramm S, Mally A. Role of drug-independent stress factors in liver injury associated with diclofenac intake. *Toxicology*. 2013 Oct 4;312:83-96 . Erratum in *Toxicology*. 2014 Feb 28;316:71-4.
27. Bianchi MLP, Antunes LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev. Nutr., maio/ago*. 1999;12(2):123-30.

Correspondência

Fernanda Dapper Machado

ERS-239, 2755

93352-000 – Novo Hamburgo, RS, Brasil

Enterobactérias produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado (ESBL) em uroculturas de transplantados renais: frequência e perfil de resistência

Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing enterobacteria in urine cultures of renal transplanted patients: frequency and resistance profile

Flávio Cristiano Barbosa Rodrigues¹

Amanda Rafaela Carneiro de Mesquita²

Resumo

Objetivo: Determinar a frequência e o perfil de resistência de enterobactérias produtoras de ESBL em uroculturas de pacientes transplantados renais delineando o referido problema neste grupo de risco. **Métodos:** Foram analisados laudos do arquivo do laboratório Escola ASCES entre janeiro de 2012 e março de 2014. **Resultados:** Durante o período do estudo foram analisadas 202 amostras de urina das quais 63 amostras foram positivas para enterobactérias. Dentre essas amostras positivas, 28,57% (18) foram positivas para ESBL. A bactéria mais frequentemente isolada foi *E. coli* (50%), seguida por *K. pneumoniae* (11,1%) e *K. oxytoca* (5,5%). Com relação ao perfil de resistência, as cepas ESBL positivas demonstraram 100% de resistência aos beta-lactâmicos. **Conclusão:** A frequência de enterobactérias ESBL positivas encontrada neste estudo foi elevada e *E. coli* foi a bactéria mais isolada. Porém, mais estudos devem ser realizados, relacionando resistência bacteriana e a transmissão desta bactéria em pacientes transplantados.

Palavras-chave

Infecções urinárias; Transplante de rim; *Enterobacteriaceae*; Beta-lactamases; Farmacorresistência bacteriana

INTRODUÇÃO

Infecções do trato urinário (ITUs) constituem uma das principais causas de consultas médicas em todo o mundo e, no Brasil, elas são responsáveis por 8% dessas consultas. Entre os indivíduos internados, a ITU é a infecção bacteriana mais comum, 12% a 30% dessas pessoas apresentam um episódio de infecção por ano.⁽¹⁻³⁾

Os principais fatores de risco para as ITUs são: diabetes, atividade sexual e gravidez nas mulheres e imunossupressão em pacientes transplantados renais. A prevalência desta doença nestes pacientes varia de 35% a 80%, ocorrendo principalmente nos primeiros três meses após o transplante.^(2,4,5)

Diversas espécies bacterianas podem causar ITU, entretanto os principais gêneros pertencem à família *Enterobacteriaceae*, sendo *Escherichia coli* a enterobactéria mais frequente em infecções urinárias, responsável por 70% a 90% dos casos. Esses índices são semelhantes em diferentes regiões do mundo, entretanto o perfil de resistência

dessas bactérias aos antimicrobianos possui grande variação e estrita relação com o histórico de utilização de antimicrobianos de cada população e região.^(2,5,6)

O crescente aumento da resistência bacteriana em uroculturas tem motivado a contínua avaliação dos perfis de sensibilidade das bactérias isoladas na urina. Embora existam pesquisas relatando uma grande variedade de mecanismos de resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos, um dos mais importantes é a produção de enzimas. Uma dessas importantes enzimas é a beta-lactamase, responsável por hidrolisar o anel beta-lactâmico de antimicrobianos como penicilinas e cefalosporinas, tornando-os inativos.⁽⁷⁻¹⁰⁾

Essas beta-lactamases conhecidas como clássicas, foram denominadas de TEM-1, TEM-2 e SHV-1. Posteriormente foram descobertas mutações nessas enzimas, as quais passaram a ser chamadas de beta-lactamases de espectro ampliado (ESBL), capazes de hidrolisar o anel beta-lactâmico de cefalosporinas de terceira geração e dos monobactâmicos.^(8,9,11)

¹Graduado em Biomedicina. Associação Caruaruense de Ensino Superior - ASCES, Caruaru, PE, Brasil.

²Biomédica. Mestre. Universidade federal de Pernambuco – UFPE – Recife, PE, Brasil.

Instituição: Associação Caruaruense de Ensino Superior - ASCES – Caruaru, PE, Brasil.

Artigo recebido em 29/01/2015

Artigo aprovado em 01/02/2016

Existem diversos estudos relatando a ocorrência de bactérias produtoras de ESBL.^(11,14) Entretanto, poucos descrevem a ocorrência desse grupo de microrganismos em pacientes transplantados, especialmente em transplantados renais.^(15,16) Devido a esse fato, o presente estudo objetivou determinar a frequência e o perfil de resistência de enterobactérias produtoras de ESBL em uroculturas de pacientes transplantados renais atendidos no Laboratório Escola ASCES no município de Caruaru, Pernambuco, delineando o referido problema neste grupo de risco.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo transversal, de levantamento documental de caráter quantitativo das uroculturas de pacientes transplantados renais realizadas no Laboratório Escola ASCES no município de Caruaru, Pernambuco, no período de janeiro de 2012 a março de 2014.

A análise dos documentos foi realizada de acordo com as seguintes variáveis classificatórias: sexo, idade, agente etiológico e sensibilidade aos antimicrobianos, sendo cuidadosamente analisados os dados de pacientes com uroculturas positivas para enterobactérias produtoras de ESBL.

As bactérias presentes na urina, cujo crescimento foi igual ou superior a 100.000 UFC/mL, foram identificadas através da coloração de Gram e provas bioquímicas de identificação como: fermentação de carboidratos, motilidade, produção de H₂S, gás, indol, utilização do citrato como fonte de carbono. O perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos foi determinado pela metodologia de disco-difusão, de acordo com as normas do CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*). A triagem fenotípica para produção de ESBL foi realizada pela técnica de disco aproximação também segundo as normas do CLSI.⁽¹⁷⁾

Ética

O levantamento dos dados foi realizado de forma a garantir total sigilo e anonimato dos nomes dos pacientes e demais dados obtidos nos livros de registro de laudos analisados.

O estudo proposto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade ASCES, protocolo nº 797.544.

RESULTADOS

Durante o período do estudo foram analisadas 202 amostras de urina das quais 63 foram positivas para enterobactérias. Dentre essas amostras positivas, 28,57% (18) foram positivas para ESBL. A bactéria mais frequentemente isolada foi *E. coli*, representando 50% das amostras, seguida por *K. pneumoniae* (11,1%) e *K. oxytoca* (5,5%) (Tabela 1).

Tabela 1 - Enterobactérias produtoras de ESBL isoladas em amostras de urina

Microrganismos	Número de amostras ESBL positivas
<i>E. coli</i>	9 (50,0)
<i>K. pneumoniae</i>	2 (11,1)
<i>K. oxytoca</i>	1 (5,5)
<i>Klebsiella</i> spp.	1 (5,5)
<i>E. aerogenes</i>	1 (5,5)
<i>Enterobacter</i> spp.	1 (5,5)
<i>P. vulgaris</i>	1 (5,5)
<i>C. koseri</i>	1 (5,5)
<i>Serratia</i> spp.	1 (5,5)
Total	18 (100%)

Os perfis de resistência dos isolados estão demonstrados na Tabela 2. Com relação ao perfil de resistência aos antimicrobianos, as cepas ESBL positivas demonstraram 100% de resistência aos beta-lactâmicos.

Tabela 2 - Perfil de resistência das bactérias ESBL positivas

Antimicrobianos	Nº (%) de cepas resistentes
Norfloxacina	18 (100)
Ciprofloxacina	18 (100)
Ampicilina + sulbactam	18 (100)
Ceftazidima	18 (100)
Aztreonam	18 (100)
Cefotaxima	18 (100)
Ceftriaxona	18 (100)
Amoxicilina - ac. Clavulanico	18 (100)
Cefepime	18 (100)
Cefalotina	18 (100)
Sulfametoxazol+trimetoprim	18 (100)
Piperacilina + tazobactam	15 (83,3)
Nitrofurantoina	12 (66,6)
Gentamicina	8 (44,4)
Cefoxitina	8 (44,4)
Linezolid	4 (22,2)
Imipenem	0
Meropenem	0

DISCUSSÃO

Embora infecções com enterobactérias produtoras de ESBL sejam reconhecidas como uma importante causa de morbidade após o transplante de órgãos sólidos, as pesquisas neste grupo de pacientes ainda são muito limitadas.⁽¹⁵⁾ Entretanto, existem diversos trabalhos relatando o isolamento e a resistência desses microrganismos em diversas partes do mundo.^(14,18,19)

Em nosso estudo, das 63 amostras positivas para enterobactérias 28,57% apresentaram positividade para ESBL. Esse resultado foi semelhante ao encontrado por Lago et al.⁽¹¹⁾ em Passo Fundo, no Rio Grande do Sul, e por Mendes et al.⁽²⁰⁾ No primeiro estudo, os pesquisadores analisaram diversas amostras biológicas de origem hospitalar e concluíram que 24,8% dos isolados foram enterobactérias produtoras de ESBL. No segundo trabalho, os autores encontraram uma positividade de 29% para enterobactérias produtoras de ESBL também em amostras de origem hospitalar.

A literatura relata que *Klebsiella* spp. e *Escherichia coli* são os principais reservatórios dos genes que codificam ESBL dentro do ambiente hospitalar. No entanto, outros gêneros bacterianos como *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. e *Serratia* spp. já foram identificados com a mesma resistência.⁽²¹⁾

Nosso estudo ratifica essas informações, visto que, dos 28,57% das cepas ESBL positivas, 50% foram de *E. coli* e 22,1 % foram de *Klebsiella* spp. Pesquisas realizadas por Silva e Salvino⁽²¹⁾ em Vitória, Espírito Santo, evidenciaram também uma positividade para cepas de *Klebsiella* spp. (69,7%) e *E. coli* (17%), porém com uma frequência diferente da encontrada em nosso estudo para as referidas espécies bacterianas. Porém, os resultados deles corroboram com os nossos em relação à positividade para *E. coli*, produtora de ESBL (50,8%).

Com relação ao perfil de resistência das cepas isoladas, chama atenção a forte relação encontrada entre bactérias produtoras de ESBL e resistência aos inibidores da síntese do folato (sulfametoxazol-trimetoprim). Nosso estudo revelou que 100% das cepas ESBL positivas também foram resistentes aos inibidores da síntese do folato. Segundo, Fox et al.,⁽²²⁾ isso acontece porque esse antibiótico é utilizado na fase pós-transplante para prevenir a ocorrência de infecções urinárias.

Outro fato relevante observado em nosso estudo foi a resistência aos inibidores de beta-lactamases, como ampicilina-sulbactam e amoxicilina-ácido clavulânico, que chegou a 100%, e piperacilina-tazobactam, com 83,33% de cepas resistentes, resultado muito acima do encontrado por Lago et al.,⁽¹¹⁾ que, em seus estudos, observaram 32,6% de resistência a piperacilina-tazobactam. De acordo com esses valores encontrados, os pesquisadores sugerem a presença de outro mecanismo de resistência associado além de ESBL.

Observamos também uma resistência significativa à gentamicina (44,44%), porém menor do que a encontrada por Lago et al.,⁽¹¹⁾ que obtiveram resistência de aproximadamente 70% à gentamicina. Quanto aos carbapenêmicos (imipenem e meropenem), não foi verificada nenhuma cepa resistente a esses antimicrobianos. Isso ratifica a escolha dos mesmos como drogas de escolha para o tratamento de

infecções causadas por bactérias produtoras de ESBL. Contudo, lembramos que já existem relatos na literatura de cepas resistentes a estas drogas, o que sugere que o uso destes fármacos deve ser moderado e até mesmo evitado, sempre que possível, para que não se estimule o surgimento de mais cepas multirresistentes.^(23,24)

CONCLUSÃO

Através do presente estudo podemos concluir que a frequência de enterobactérias produtoras de ESBL em ITU's de transplantados renais foi alta e semelhante à de espécimes isolados de diversas amostras obtidas em ambiente hospitalar, sendo *E. coli* a principal bactéria responsável pelas infecções urinárias neste grupo de pacientes.

Com relação ao perfil de resistência, nosso estudo revelou que, apesar de guardar uma semelhança com os perfis encontrados em outros espécimes clínicos, no grupo em estudo a resistência às combinações de beta-lactâmicos e inibidores de beta-lactamases foi bem maior, o que ratifica a importância da realização da triagem para cepas produtoras de ESBL durante a realização do antibiograma.

Mesmo não sendo o objetivo do nosso estudo, durante o levantamento de dados nos arquivos do Laboratório Escola ASCES observamos que, quando uma cepa ESBL positiva era isolada, geralmente, poucas semanas após, outras cepas surgiam. Este fato sugere uma possível transmissão entre os pacientes, visto que eles frequentam o mesmo ambiente hospitalar. Essa observação é bastante relevante porque essa transmissão pode favorecer a ocorrência de infecções comunitárias, visto que os transplantados, apesar de frequentarem regularmente o hospital, não são pacientes internos. Porém, mais estudos devem ser realizados relacionando resistência bacteriana e a transmissão desta em pacientes transplantados.

Abstract

Objective: Determine the frequency and the resistance profile of ESBL-producing Enterobacteriaceae in urine cultures of kidney transplant patients outlining the aforementioned problem in this risk group. **Methods:** File lab reports of ASCES School between January 2012 and March 2014 were analyzed. **Results:** During the study period were analyzed 202 urine samples which 63 samples were positive for enterobacteria. Among these positive samples, 28.57% (18) were positive for ESBL. The most frequently isolated bacteria were *E. coli* (50%), followed by *K. pneumoniae* (11.1%) and *K. oxytoca* (5.5%). With respect to the resistance profile, the ESBL positive strains showed 100% resistance to beta-lactams. **Conclusion:** The prevalence of ESBL-positive enterobacteria found in this study was high, and *E. coli* was the most commonly isolated bacteria. However, more studies should be done by linking bacterial resistance and the transmission of this in transplant patients.

Keywords

Urinary tract infections; Kidney transplantation; Enterobacteriaceae; Beta-lactamases; Pharmaco-resistance; Bacterial

REFERÊNCIAS

1. Andreu A, Alós JI, Gobernado M, Marco F, Rosa M, García-Rodríguez JA. Etiología y sensibilidad a los antimicrobianos de los uropatógenos causantes de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad: Estudio nacional multicêntrico. España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005;23(1):4-9.
2. Braoios A, Turatti TF, Meredija LCS, Campos TRS, Denadai FHM. Infecções do trato urinário em pacientes não hospitalizados: Etiologia e padrão de resistência aos antimicrobianos. *Brasil. J Bras Patol Med Lab*. 2009 Dec;45(6):449-56.
3. Roriz-Filho JS, Vilar FC, Mota LM, Leal CL, Pisi PCB. Infecção do trato urinário. *Brasil. Rev FMRP*. 2010;43(2):118-25.
4. Ferreira AC, Heilberg IP. Infecção do trato urinário no pos-transplante renal em crianças. *Brasil, J Bras Nefrol*. 2001;23(1):18-24.
5. Silva JCA, Farias TFF, Santos AL, Françolin AC, Svidzinsk TIE. Infecções urinárias de origem bacteriana diagnosticadas em Umuarama-PR. *Brasil. RBAC*. 2007;39(1):59-61.
6. Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer AJ, Stamm WE. Guidelines for antimicrobial treatment uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in woman. *Infectious diseases society of america (IDSA)*. USA. *Clin Infect Dis*. 1999; 29: 745-58.
7. Camargo CBS, Pedro CC, Lourenço DS, Gironi RHAR, Martinez R. Infecção de vias urinárias na comunidade de Ribeirão Preto-SP: Etiologia, sensibilidade bacteriana a antimicrobianos e implicações terapêuticas. *Brasil. Rev FMRP*. 2002 Apr-Jun;35:173-78.
8. Dalmarco EM, Blatt SL, Córdova CMM. Identificação laboratorial de b-lactamases de espectro estendido (ESBLs) - revisão. *Brasil. RBAC*. 2006;38(3):171-77.
9. Junior MAS, Ferreira ES, Conceição GC. Betalactamases de espectro ampliado (ESBL): Um importante mecanismo de resistência bacteriana e sua detecção no laboratório clínico. *Brasil. Rev NewsLab*. 2004;63:152-74.
10. Sturenburg E, Mack D. Extended-spectrum beta-lactamases: Implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. USA. *J Infect*. 2003 Nov;47(4):273-95.
11. Lago A, Fuentefria SR, Fuentefria DB. Enterobactérias produtoras de ESBL em Passo Fundo, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Brasil. Rev Soc Bras Med Trop*. 2010 Jul-Aug;43(4):430-34.
12. Menegol D, Picoli SU, Ferreira MC. Pesquisa de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) em enterobacteriaceae uropatogênicas isoladas em laboratório de Caxias do Sul. *Brasil. RBAC*. 2012; 44(2):97-100.
13. Biehl LM, Schmidt-Hieber M, Liss B, Cornely OA, Vehreschild JM. Colonization and infection with extended spectrum beta-lactamase producing enterobacteriaceae in high-risk patients - review of the literature from a clinical perspective. USA. *Crit Rev Microbiol*. 2016 Feb;42(1):1-16.
14. Brolund A. Overview of ESBL-producing Enterobacteriaceae from a Nordic perspective. *Infect Ecol and Epidem*. 2014 Oct;4:245-55.
15. Aguiar EB, Maciel LC, Halpern M, de Lemos AS, Ferreira AL, Basto ST, et al. Outcome of bacteremia caused by extended-spectrum β -lactamase-producing enterobacteriaceae after solid organ transplantation. *Transpl Proceedings*. 2014 Jul-Aug;46(6):1753-56.
16. Ramadas P, Rajendran PP, Krishnan P, Alex A, Siskind E, Kadiyala A, et al. Extended-spectrum beta-lactamase producing bacteria related urinary tract infection in renal transplant recipients and effect on allograft function. *PLoS One*. 2014 Mar 17;9(3):e91289.
17. Clinical and Laboratory Standards institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. USA. Documento M100-S23, 2012.
18. Emary KR, Carter MJ, Pol S, Sona S, Kumar V, Day NP, et al. Urinary antibiotic activity in paediatric patients attending an outpatient department in north-western Cambodia. *Trop Med Int Health*. 2015 Jan;20(1):24-8.
19. González-López JJ, Piedra-Carrasco N, Salvador F, Rodríguez V, Sánchez-Montalvá A, Planes AM, et al. ESBL-producing *Salmonella enterica* serovar Typhi in traveler returning from Guatemala to Spain. *Emerg Infect Diseases*. 2014 Nov;20(11):918-20.
20. Mendes C, Hsiung A, Kiffer C, Oplustil C, Sinto S, Mimica I, et al; Mystic Study Group. Evaluation of the in vitro activity of 9 antimicrobials against bacterial strains isolated from patients in intensive care units in Brazil: MYSTIC Antimicrobial Surveillance Program. *Braz J Infect Dis*. 2000 Oct;4(5):236-44.
21. Silva CHPM, Salvino CR. Importância do reconhecimento de enterobactérias hospitalares produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) e suas implicações terapêuticas. *Brasil. Rev NewsLab*. 2000;41:104-12.
22. Fox BC, Sollinger HW, Belzer FO, Maki DG. A prospective, randomized, double-blind study of trimethoprim-sulfamethoxazole for prophylaxis of infection in renal transplantation: Clinical efficacy, absorption of trimethoprim-sulfamethoxazole, effects on the microflora, and the cost-benefit of prophylaxis. USA. *Am J Med*. 1990 Sep;89(3):255-74.
23. Gonzalez-Padilla M, Torre-Cisneros J, Rivera-Espinar F, Pontes-Moreno A, López-Cerero L, Pascual A, et al. Gentamicin therapy for sepsis due to carbapenem-resistant and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2015 Mar;70(3):905-13.
24. Moayednia R, Shokri D, Mobasherizadeh S, Baradaran A, Fatemi SM, Merrikhi A. Frequency assessment of β -lactamase enzymes in *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates in patients with urinary tract infection. *J Res Med Sci*. 2014 Mar;1(19):41-5.

Correspondência

Flávio Cristiano Barbosa Rodrigues
Avenida Portugal, 584 – Bairro Universitário
55016-400 – Caruaru – PE, Brasil

Evolução temporal da mortalidade por câncer de tireoide no Brasil no período de 2000 a 2012

Temporal evolution of mortality by thyroid cancer in Brazil in the period of 2000-2012

Lívia Maria Silva dos Santos¹

Danielle Freitas Sales¹

Vanessa da Silva Brito¹

Caroline Alves Feitosa²

Resumo

Objetivo: O câncer de tireoide (CT) é um tumor maligno, que possui quatro tipos, classificados em ordem crescente de acordo com sua agressividade: o papilífero, folicular, medular e anaplásico. Embora a incidência de câncer de tireoide esteja aumentando em diversos países, os dados sobre a mortalidade apresentam resultados divergentes. Em virtude do crescente número de casos de neoplasias tireoidianas, e da ausência de dados mais recentes sobre a distribuição desse fenômeno no País, o objetivo central deste trabalho é descrever a evolução temporal da mortalidade por câncer de tireoide no Brasil, de 2000 a 2012. **Métodos:** Estudo ecológico com base nas informações provenientes dos sistemas de informação em saúde do DATASUS e INCA (Instituto Nacional de Câncer). **Resultados:** Ao longo de todo o período investigado, observamos um total de 6.914 óbitos por câncer de tireoide, sendo 32% (2212) em homens e 68% (4702) em mulheres. Observou-se uma tendência de aumento no coeficiente bruto de mortalidade por CT no período de 2000 a 2012. **Conclusão:** O estudo sugere a intensificação das ações de saúde para melhoria do acesso ao diagnóstico precoce e ao tratamento, fatores esses particularmente relevantes para redução da mortalidade por câncer de tireoide.

Palavras-chave

Mortalidade; Neoplasias; Neoplasias da glândula tireoide

INTRODUÇÃO

A tireoide é uma glândula endócrina em forma de borboleta de asas abertas, situada na base do pescoço, à frente da laringe, cuja função é a produção dos hormônios tireoidianos, T3 (triiodotironina) e o T4 (tiroxina), responsáveis pelo metabolismo do organismo.⁽¹⁾

A glândula tireoide sofre alterações de tamanho (aumento ou diminuição) durante o período menstrual, na gravidez e por influências de hormônios ovarianos que, conseqüentemente, podem trazer uma série de doenças benignas ou malignas, entre elas o câncer tireoidiano (CT).⁽²⁾ Os principais tipos são os carcinomas papilífero (65%-80%), folicular (10%-15%), medular (5%-10%) e anaplásico (3%-5%). O papilífero tem evolução lenta, alto índice de cura e ocorre apenas na região dos gânglios próximos à tireoide. O folicular possui evolução mais rápida, enquanto que o medular afeta as células parafoliculares, responsáveis pela produção de calcitonina, sendo de difícil tratamento. E o anaplásico é considerado o mais raro e mais agressivo, sendo responsável por 2/3 dos óbitos desta doença.⁽³⁾

O câncer de tireoide é um tumor maligno, que acomete com maior frequência indivíduos com idade acima de 40 anos, sexo feminino e portadores de nódulos tireoidianos prévios.^(4,5) Nas mulheres, segundo dados da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia,^(3,6) ocupa a quinta posição em relação a outros tipos de cânceres.

O diagnóstico de tumor na tireoide pode ser realizado por especialista, ao perceber o nódulo, com um simples toque no pescoço, confirmando por ultrassonografia. Após a confirmação, realiza-se uma biópsia para remoção de uma amostra do tecido, que será examinado em laboratório com a finalidade de determinar se o tumor é maligno ou benigno.⁽⁷⁾

No que diz respeito aos fatores de risco, estão potencialmente associados à ocorrência dessa neoplasia o histórico familiar, exposições a agentes mutagênicos, como radiação, agentes químicos ou biológicos, estilo de vida, incluindo dieta e atividade física, obesidade, alcoolismo, tabagismo, diabetes *mellitus*, resistência à insulina e estresse.^(8,9) Além disso, segundo o INCA,⁽¹⁰⁾ estudos atribuem o crescimento na incidência desse carcino-

¹Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – EBMS; Unidade Acadêmica Brotas – Universidade Federal da Bahia (UFBA) – Salvador, BA, Brasil.

²Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – EBMS; Instituto de Saúde Coletiva – Universidade Federal da Bahia (UFBA) – Salvador, BA, Brasil.

Instituição: Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – EBMS; Instituto de Saúde Coletiva – ISC/UFBA - Universidade Federal da Bahia (UFBA) Salvador, BA, Brasil.

Artigo recebido em 14/01/2016

Artigo aprovado em 10/03/2016

ma tireoidiano ao aumento da ingestão de iodo na dieta, assim como a fatores genéticos, devido a 20% dos casos estarem relacionados com o gene autossômico dominante.

Estudos apontam que a incidência de câncer de tireoide vem crescendo, em média, 1% ao ano, porém, tem ocorrido uma queda na taxa de mortalidade de tal patologia.⁽¹¹⁾ Acredita-se que a evolução das tecnologias/tratamento e, sobretudo, o diagnóstico precoce, a mudança de hábitos, acesso a informações, campanhas de saúde, visitas regulares ao endocrinologista estejam contribuindo para a baixa mortalidade.⁽¹¹⁾

Estudos brasileiros recentes sobre a temática são escassos, enfatizando a necessidade de realização de levantamentos epidemiológicos com dados oficiais para que seja possível observar as tendências na ocorrência de câncer de tireoide, visando assim orientar as políticas e ações de saúde para prevenção e cuidado dos pacientes com este tipo de câncer.

O objetivo central deste trabalho é descrever a evolução temporal da mortalidade por câncer de tireoide no Brasil, de 2000 a 2012.

MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia aplicada neste trabalho foi de um estudo ecológico sobre a mortalidade por câncer de tireoide, no período entre os anos de 2000 a 2012, dentro do espaço geográfico brasileiro. Por se tratarem de dados secundários de domínio público, não foi necessária a submissão do presente trabalho ao CEP (Comitê de Ética em Pesquisa).

Esse trabalho teve como base as informações concedidas pelos sistemas de informação em saúde do DATASUS e INCA (Instituto Nacional de Câncer). Esses sistemas, oferecem também todo o suporte para que sejam dadas atenção não apenas individual, como para se aplicarem ações coletivas dentro dessa esfera.⁽¹²⁾

O DATASUS, Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde, foi criado em 1991, e suas competências incluem: fomentar, regulamentar e avaliar as ações de informatização do SUS, direcionadas para a manutenção e desenvolvimento do sistema de informações em saúde e dos sistemas internos de gestão do Ministério da Saúde; manter o acervo das bases de dados necessárias ao sistema de informações em saúde e aos sistemas internos de gestão institucional; definir programas de cooperação técnica com entidades de pesquisa e ensino para prospecção e transferência de tecnologia e metodologias de informação e informática em saúde.⁽¹³⁾

O Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM) agrega dados sobre os óbitos, incluindo informações acerca das causas e condições do óbito, características socio-

demográficas, entre outras.⁽¹³⁾ No que diz respeito aos dados utilizados para o presente trabalho, foram tabuladas as informações sobre todos os óbitos cuja causa básica foi o câncer de tireoide - CID-10 C73, que se refere à neoplasia maligna da glândula tireoide.

Os Registros Hospitalares de Câncer (RHC) são ferramentas de vigilância de saúde que funcionam com o serviço de coleta, armazenamento, análise e divulgação de informações de pacientes de unidades hospitalares confirmados com o diagnóstico de câncer. Esses dados são enviados via Internet de acordo com critérios estabelecidos pela Portaria Ministerial nº 741, de dezembro de 2005.

O sistema de morbidade por câncer é consolidado a partir das informações de 23 Registros de Câncer de Base Populacional (RCBP), e supridos por uma rede de 282 RHC, o qual agrega o SIM para a elaboração da estimativa de 19 tipos de câncer, apresentada para o território nacional, estados e capitais, por gênero.⁽⁶⁾

Na análise dos dados levaram-se em consideração dois importantes aspectos: o desenho de séries temporais e o quantitativo de óbitos desse tipo específico de câncer, considerando o sexo e diferentes faixas etárias (0-19, 20-39, 40-59 e 60 ou mais), abrangendo os anos de 2000 a 2012, no Brasil.

O cálculo dos coeficientes de mortalidade levou em consideração a população residente, utilizando como referência a ocorrência dos eventos a cada 100 mil habitantes. Os dados foram extraídos do DATASUS e INCA e, posteriormente, transformados em planilhas no Excel, no qual foram elaborados as tabelas e gráficos.

RESULTADOS

Ao longo de todo o período investigado, observamos um total de 6.914 óbitos por câncer de tireoide, sendo 2.212 em homens, equivalendo a 32%, e 4.702 em mulheres, com um percentual de 68%. O gráfico abaixo apresenta a distribuição desses óbitos ao longo do período (Gráfico 1).

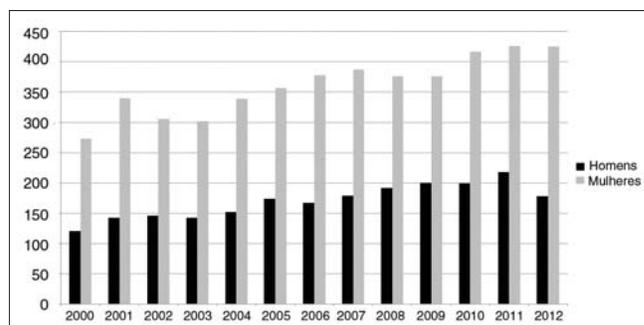


Gráfico 1. Total de óbitos entre Homens e Mulheres (2000 a 2012) por 100 mil habitantes

Ainda observando o Gráfico 1, é possível verificar que os óbitos em mulheres tiveram um aumento significativo no período de 2010 a 2012, se comparados aos anos anteriores. Já nos homens houve oscilação entre o total de óbitos, no mesmo período, mostrando uma diminuição na taxa de mortalidade no ano de 2012.

O Gráfico 2 representa a evolução dos óbitos por câncer de tireoide entre os sexos, no território brasileiro, entre os anos 2000 a 2012. Observamos, de maneira geral, um aumento na mortalidade por câncer de tireoide no período estudado. Esse aumento foi em média, de 35% para ambos os sexos ao longo dos doze anos investigados.

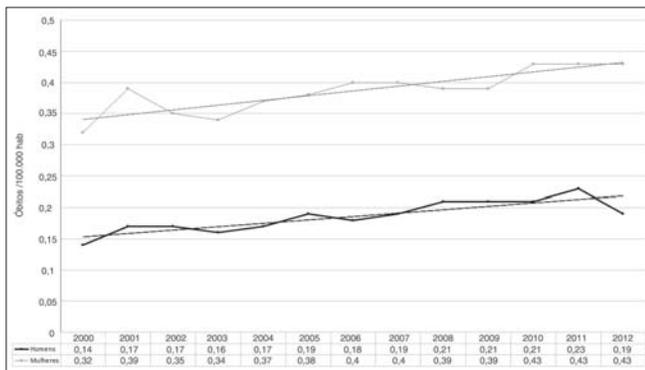


Gráfico 2. Coeficiente de mortalidade por câncer de tireoide em homens e mulheres (2000 a 2012).

Especificamente para as mulheres, os coeficientes de mortalidade apresentam um crescimento gradual e contínuo ao longo desse intervalo temporal. No ano de 2000, observamos 0,32 óbitos a cada 100 mil mulheres, enquanto que esse coeficiente foi de 0,43 em 2012. No caso dos homens, os coeficientes apresentam valores mais baixos, bem aproximados e, em alguns momentos, permanecem constantes num período de três anos consecutivos, como ocorreu em 2008, 2009 e 2010. No ano de 2000, observamos 0,14 óbitos a cada 100 mil homens, enquanto que esse coeficiente foi de 0,19 em 2012.

Comparando a ocorrência dos óbitos pelo câncer de tireoide entre mulheres e homens, observa-se que a taxa de mortalidade entre as mulheres é aproximadamente duas vezes maior do que na população masculina, durante todo o período analisado.

De acordo com o Gráfico 3, o crescimento por óbitos de CT, tanto no sexo feminino quanto no masculino, começa na faixa etária dos 20 aos 39 anos. No entanto, o maior número de óbitos ocorre entre os 60 e 79 anos de idade, em média, 32% (1.168 óbitos) nos homens e 68% (2.461 óbitos) nas mulheres. Em todas as faixas, as mulheres apresentam um maior percentual de óbitos. E, mais preocupante, 78% dos óbitos em indivíduos com 80 anos ou mais ocorrem em mulheres. Em relação aos dados ignorados por idade, totalizam quatro óbitos, sendo dois para cada sexo.

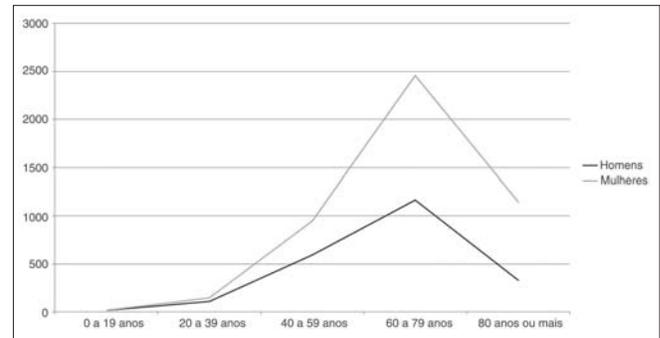


Gráfico 3. Total de óbitos por câncer de tireoide de acordo com faixa etária e sexo (2000 a 2012).

DISCUSSÃO

Os dados aqui apresentados demonstram que tem ocorrido um aumento significativo na mortalidade por câncer de tireoide no Brasil na primeira década do século XXI. Particularmente, esse aumento é maior entre as mulheres, o que corrobora com outros estudos, os quais identificaram que a mortalidade por CT é mais elevada no sexo feminino.^(11,14)

O maior número de óbitos encontrados entre as mulheres de 60 a 79 anos também foi reportado por Coeli et al.⁽¹¹⁾ Além disso, Maso et al.⁽¹⁵⁾ identificaram que a incidência de câncer de tireoide é maior em mulheres com idade entre 45-49 anos, potencialmente contribuindo para um aumento no número de óbitos nas faixas etárias posteriores.

O aumento da mortalidade no sexo feminino é provavelmente um reflexo do padrão de incidência dessa neoplasia, que é consideravelmente maior no sexo feminino do que no masculino, como apresentado por Brito et al.⁽¹⁶⁾ Além disso, o aumento da incidência de CT em mulheres pode estar associado a fatores de risco como idade,⁽¹⁵⁾ hábitos de vida,⁽¹⁷⁾ obesidade,^(8,9) assim como a influência dos hormônios reprodutivos.⁽¹⁸⁾

Conforme estudos realizados por Talinj⁽¹⁹⁾ e Coeli,⁽¹¹⁾ a exposição à radiação na região da cabeça e pescoço e a história familiar estão associados ao risco de CT. No entanto, o uso de iodo na alimentação, o tabagismo, o consumo de álcool, menstruação e reprodução são considerados menos plausíveis no desenvolvimento de tal patologia. Segundo Seuánez,^[1] em 2009, entre 5% a 10% dos casos de câncer de tireoide têm história familiar.⁽⁶⁾ Para Maia,^[2] 2009, o câncer de tireoide pode estar associado a uma síndrome genética com forte componente hereditário familiar, chamado Neoplasia Endócrina Múltipla Tipo 2 (NEM 2).⁽⁶⁾

Outros estudos epidemiológicos têm reportado um aumento contínuo e persistente na incidência de CT em diversas partes do mundo, incluindo Estados Unidos, Canadá, Austrália, assim como na Europa, Ásia e Oriente Médio.⁽⁴⁾ No entanto, no que diz respeito à mortalidade, os achados

variam de acordo com o local e período do estudo, sendo as maiores taxas de mortalidade reportadas na América Central e na Ásia, bem como Europa Oriental e Central, e as taxas mais baixas na Europa Ocidental e América do Norte.⁽²⁰⁾ De maneira geral, outros estudos reportam uma redução na mortalidade por essa neoplasia, em ambos os sexos, potencialmente associada a ações voltadas para a detecção precoce do CT.^(11,21) Porém, para melhoria da comparação e esclarecimento das tendências recentes da mortalidade por CT no Brasil, faz-se necessário um aprofundamento das análises, incluindo padronização das taxas e expansão das séries temporais para períodos mais atuais.

É importante enfatizar que a mudança no cenário de aumento na mortalidade por CT depende intrinsecamente da estruturação de ações voltadas para a realização do diagnóstico precoce e melhoria do acesso ao tratamento dos pacientes que apresentam tal neoplasia.⁽¹¹⁾ Segundo Guimarães et al.,⁽⁴⁾ 80% dos casos de carcinoma diferenciado, quando tratados, apresentam bom prognóstico e aumento na sobrevida. Estima-se uma sobrevivência global de 95% para os carcinomas papilíferos, 77% para os foliculares e 85% para os medulares (linfonodos negativos) e de 40% para aqueles que apresentam invasão ganglionar.⁽¹¹⁾

Verificamos que existem importantes limitações para que se tenha informação real e total do número de óbitos por CT. Provavelmente isso acontece por erro de preenchimento nas declarações de óbito, ou possíveis falhas na alimentação dos sistemas, levando à subnotificação e subregistro de informações essenciais para compreensão do real cenário de saúde da população.⁽¹²⁾ Além disso, esse estudo apresenta apenas as taxas brutas, sendo necessário o uso também de taxas padronizadas, para observação das tendências, levando em consideração as mudanças nos padrões demográficos da população brasileira.

CONCLUSÕES

Os resultados reforçam que a mortalidade por câncer de tireoide está aumentando na última década, acometendo mais as mulheres do que os homens. Esses resultados sugerem que mais investimentos são necessários com o intuito de minimizar, e, se possível, reverter o quadro. Essas intervenções devem priorizar as ações de saúde que intensifiquem o acesso ao diagnóstico precoce e tratamento, fatores esses particularmente relevantes para redução da letalidade do câncer de tireoide.

Além disso, outros estudos são necessários para identificar não apenas a progressão do fenômeno ao longo do tempo, mas para investigar os fatores de risco associados a esse crescimento. Faz-se necessário investir em pesquisas com dados primários que colem medidas biológicas para esclarecimento dos mecanismos causais associados à essa neoplasia.

Abstract

Objective: Thyroid cancer (TC) is a malignant tumor that has four types, classified in ascending order of their aggressiveness: papillary, follicular, medullary and anaplastic. Although thyroid cancer incidence is increasing worldwide, mortality data show divergent results. Due to the increasing number of cases of thyroid cancer, and the absence of more recent data on the distribution of this phenomenon in the country, the central objective of this study is to describe the temporal evolution of mortality thyroid cancer in Brazil, from 2000 to 2012. **Methods:** An ecological study based on information from the information health systems DATASUS and INCA (National Cancer Institute). **Results:** Throughout the period investigated, we observed a total of 6,914 deaths thyroid cancer, 32% (2,212) in men, and 68% (4,702) in women. There was an increasing trend in the crude mortality rate for CT from 2000 to 2012. **Conclusion:** The study suggests the intensification of health actions to improve access to early diagnosis and treatment, which are particularly relevant to reduce mortality from thyroid cancer.

Keywords

Mortality; Neoplasms; Thyroid neoplasms

REFERÊNCIAS

- Dumont JE, Vassart G. Thyroid gland metabolism and the action of TSH. *Endocrinology*. 1979;1:311-29.
- Mctiernan AM, Weiss NS, Daling JR. Incidence of thyroid cancer in women in relation to reproductive and hormonal factors. *Am J Epidemiol*. 1984;120(3):423-35.
- Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metodologia. Câncer de Tireoide. Disponível em <<http://www.endocrino.org.br/proteja-se-do-cancer-de-tireoide/>>. 2014. Acesso em. 25. Abr. 2015.
- Guimarães RM, Muzi CD, Parreira VG, Santos RD, Sampaio JR. Evolution of thyroid cancer mortality in adults in Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2013 Oct;57(7):538-44.
- Ward LS. Câncer de tireoide. *Rev Bras Cir Cabeça Pescoço*. 2012; 41(2):103-8.
- Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Rede nacional de câncer familiar: manual operacional / Instituto Nacional de Câncer - Rio de Janeiro: INCA, 2009. 229 p.
- Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, et al; American Thyroid Association Guidelines Taskforce. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid*. 2006 Feb;16(2):109-42.
- Pellegriti G, Frasca F, Regalbutto C, Squatrito S, Vigneri R. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. *J Cancer Epidemiol*. 2013;2013: 965212.
- Bhaskaran K, Douglas I, Forbes H, dos-Santos-Silva I, Leon DA, Smeeth L. Body-mass index and risk of 22 specific cancers: a population-based cohort study of 5.24 million UK adults. *Lancet*. 2014 Aug 30;384(9945):755-65.
- Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer - INCA. Estimativas da incidência e mortalidade por câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2014.
- Coeli CM, Brito AS, Barbosa FS, Ribeiro MG, Sieiro AP, Vaisman M. Incidence and mortality from thyroid cancer in Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2005 Aug;49(4):503-9. [Article in Portuguese]
- Rouquayrol MZ, Almeida Filho N. Sistemas de Informação em Saúde. In: *Epidemiologia & Saúde*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2003. p. 605-626.
- Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Manual de procedimentos do sistema de informações sobre mortalidade. Brasília: Funasa, 2001.
- Rahbari R, Zhang L, Kebebew E. Thyroid cancer gender disparity. *Future Oncol*. 2010 Nov;6(11):1771-9.

15. Dal Maso L, Lise M, Zambon P, Falcini F, Crocetti E, Serraino D, et al; AIRTUM Working Group. Incidence of thyroid cancer in Italy, 1991-2005: time trends and age-period-cohort effects. *Ann Oncol*. 2011 Apr;22(4):957-63.
16. Brito Ados S, Coeli CM, Barbosa Fdos S, Caetano R, Santos Mde O, Vaisman M. Estimates of thyroid cancer incidence in Brazil: an approach using polynomial models. *Cad Saude Publica*. 2011 Jul;27(7):1441-4.
17. Ward LS, Graf H. Thyroid cancer: increased occurrence of the disease or simply in its detection? *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2008 Dec;52(9):1515-6. [Article in Portuguese]
18. Dal Maso L, Bosetti C, La Vecchia C, Franceschi S. Risk factors for thyroid cancer: an epidemiological review focused on nutritional factors. *Cancer Causes Control*. 2009 Feb;20(1):75-86.
19. Talini C, Hyczy JK, Ribeiro RG. Correlação entre câncer de tireoide e tireoidite de Hashimoto - estudo retrospectivo. *Rev Bras Cir Cabeça Pescoço*. 2012;41(1):12-8.
20. La Vecchia C, Malvezzi M, Bosetti C, Garavello W, Bertuccio P, Levi F, et al. Thyroid cancer mortality and incidence: A global overview. *Int J Cancer*. 2015 May 1;136(9):2187-95.
21. Ward LS, Assumpção LVM. Thyroid cancer: prognostic factors and treatment. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2004 Feb;48(1):126-36. [Article in Portuguese]

[1] Seuánez, HA. Introdução á rede nacional de câncer familiar. 2009, p. 9 apud6.

[2] Maia, AL. Neoplasia endócrina múltipla tipo 2. 2009, p.127 apud6

Correspondência

Livia Maria Silva dos Santos
Av. Dom João VI, nº 275, Brotas, Unid. Acadêmica Brotas
40290-000 – Salvador, BA, Brasil
Rua Basílio da Gama, s/n - Canela
40110-040 – Salvador, BA, Brasil

Avaliação da infecção pelo Papiloma Vírus Humano (HPV) em exames citopatológicos

Human Papillomavirus infection evaluation in cytopathological exams

Larisse Silva Dalla Libera¹
Gracyely Nabratylva de Sousa Alves¹
Haynslaine Gabriel de Souza¹
Maria Adriana Santos Carvalho²

Resumo

Objetivo: Teve como objetivo analisar a prevalência de alterações citopatológicas sugestivas de infecção por HPV. **Métodos:** O presente trabalho trata-se de um estudo quantitativo descritivo, que utilizou como fonte de captação dos dados, fichas e laudos de exames citopatológicos de pacientes atendidas na Unidade Cais Progresso da cidade de Anápolis-GO. **Resultados:** 3.831 fichas de mulheres submetidas ao exame foram estudadas, revelando apenas 24 laudos com alguma alteração, e destes apenas nove eram classificados com algum tipo de NIC. **Conclusão:** Observou-se uma maior incidência por HPV em mulheres de meia idade e o grau de escolaridade menor. Esse estudo foi o primeiro desta natureza na Unidade Cais Progresso, servindo de estímulo para os serviços de saúde local e a promoção da saúde.

Palavras-chave

Doenças sexualmente transmissíveis; Lesões pré-cancerosas; Neoplasias dos genitais femininos

INTRODUÇÃO

O Papiloma Vírus Humano (HPV) é um vírus capaz de provocar lesões na pele e mucosas, sendo essas infecções frequentes e quase sempre regridem naturalmente. Há mais de cem tipos de HPV, sendo que quarenta podem contaminar o trato ano-genital. O HPV também pode ser classificado como de baixo risco oncogênico e alto risco oncogênico, representados principalmente pelos tipos 16 e 18, que são os que mais prevalecem nos casos de câncer cervical invasivo, compreendendo uma porcentagem de 70% do total dessas neoplasias.⁽¹⁾

A infecção pelo HPV ocorre quando há microlesão nas células basais do epitélio escamoso no colo do útero. O vírus penetra na célula do hospedeiro, liberando seu DNA, replicando-se e podendo permanecer em estado latente por vários anos, sem provocar manifestações clínicas ou subclínicas.⁽²⁾

De acordo com o Instituto Nacional do Câncer,⁽³⁾ quando o vírus ocasiona manifestações clínicas, podem-

se observar verrugas ou lesões exofíticas, mais conhecidas como condilomas acuminados e popularmente apelidadas de "crista de galo". Desenvolvem-se com tamanho variado e aspecto de couve-flor, sendo que, em mulheres, podem ser encontradas no colo do útero, vagina, vulva, região pubiana, perianal e ânus. Em homens acometem o pênis, bolsa escrotal, região pubiana, perianal e ânus. Ainda há o risco de essas lesões surgirem na boca e na garganta em ambos os sexos. As infecções subclínicas podem ser localizadas nas mesmas regiões e passarem despercebidas.

Quando essas lesões se desenvolvem na região cervical, podem ser classificadas de acordo com a nomenclatura citopatológica brasileira como: Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL ou NIC I), nas quais alterações citológicas limitam-se ao terço do epitélio de revestimento da cérvix e quase sempre se encontra efeito citopático compatível com HPV; Lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL, NIC II ou NIC III), que atinge acima de 50% do epitélio pavimentoso de revestimento do colo

¹Graduanda de Biomedicina pela Faculdade Anhanguera de Anápolis, GO, Brasil.

²Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Goiás – UEG – Anápolis, GO. Mestrado em Ecologia e Evolução pelo Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução da Universidade Federal de Goiás – UEG – Goiânia, GO. Orientadora pela Faculdade Anhanguera de Anápolis, GO, Brasil.

Instituição: Faculdade Anhanguera de Anápolis, GO, Brasil.

Conflito de interesses: Não há conflito de interesses.

Artigo recebido em 11/12/2013
Artigo aprovado em 29/01/2016

uterino; Carcinoma *in situ* (NIC III), que abrange toda a espessura epitelial; Adenocarcinoma *in situ* (AIS), que são alterações semelhantes à NIC III, só que em células glandulares da cérvix e Carcinoma invasor, compreendendo células escamosas com grande variação de forma, núcleo e tamanho.⁽⁴⁾

Estudos epidemiológicos comprovam que apenas a presença do HPV não justifica a carcinogênese cervical, mas, sim, sua persistência associada a fatores de risco, como início precoce da vida sexual, múltiplas parcerias sexuais, comportamento sexual, resposta imunológica do hospedeiro, uso de contraceptivos orais, tabagismo e a presença de doenças sexualmente transmissíveis.⁽⁵⁾ Outro fator agravante é o grau de escolaridade associada à não realização do exame preventivo, pois este indicador socioeconômico demonstra que a população de baixa renda não tem informação suficiente para buscar auxílio com a realização do exame, levando ao desenvolvimento, por longo tempo, da infecção por HPV e, conseqüentemente, do câncer.⁽⁶⁾

Quando o indivíduo é infectado pelo HPV, as células do epitélio sofrem maturação e multiplicação acelerada, induzidas pelas oncoproteínas do vírus (E1 a E7, L1, L2 e LCR), gerando um processo neoplásico benigno que, se não detectado, pode evoluir para um processo neoplásico maligno.⁽⁷⁾ Essa progressão pode variar de dez a vinte anos, facilitando a detecção das lesões pré-neoplásicas precocemente no exame citopatológico de Papanicolau.⁽⁸⁾

Estimativas do INCA comprovam que, no ano de 2012, foram detectados 17.540 novos casos de câncer cervical, sendo este o segundo tumor mais frequente entre as mulheres e a quarta causa de morte da população feminina do Brasil. Somente cerca de 5% dos indivíduos acometidos pela infecção por HPV terão alguma manifestação.⁽³⁾

Sabe-se que o exame citopatológico, também conhecido como Papanicolau ou exame preventivo, é aplicado como meio mais adequado, simples e barato para o rastreamento do câncer cervical. É realizado através de um esfregaço ou raspado de células esfoliadas do epitélio cervical e vaginal, tendo seu valor tanto para prevenção secundária quanto para diagnóstico de lesões pré-neoplásicas, influenciando na redução da incidência do câncer e de sua morbimortalidade.⁽⁹⁾

A prevenção anual e o diagnóstico precoce das lesões cervicais são primordiais para garantir o tratamento eficaz e vencer as dificuldades existentes neste grave problema de saúde pública. Fatores como cultura, nível socioeconômico, alfabetização, conhecimento sobre os programas de prevenção do câncer de colo uterino devem ser sempre considerados como alvo para o sistema público de saúde, para que garanta de maneira satisfatória e sistematizada o atendimento à população.⁽¹⁰⁾

O presente trabalho teve por objetivo analisar a prevalência de alterações citopatológicas sugestivas de infecção por HPV em mulheres, determinar a faixa etária e o grau de escolaridade de acordo com as fichas das pacientes atendidas na Unidade de Saúde Jardim Progresso com suspeita de infecção pelo HPV, relatar o período do último exame preventivo (Papanicolau) realizado por cada paciente que foi diagnosticada com o câncer sugestivo de infecção por HPV, verificar as possíveis associações do câncer do colo do útero com outras infecções reveladas no exame de Papanicolau, relacionar o surgimento do câncer cervical pelo HPV com o uso de terapia hormonal e/ou contraceptivos, avaliando as lesões de acordo com o sistema de classificação de lesão.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo quantitativo descritivo, utilizando, como fonte de captação, dos dados, fichas e laudos dos exames citopatológicos de pacientes atendidas na Unidade de Saúde do Jardim Progresso, da cidade de Anápolis-GO e realizados no Laboratório Goiano de Patologia e Citologia – Lagpac, dentre o período de janeiro de 2012 até julho de 2013.

O Lagpac é responsável por recolher as amostras citopatológicas e realizar o exame preventivo pelo método de coloração de Papanicolau em lâmina. Esta mesma instituição autorizou a utilização dos dados para a pesquisa, por meio de um documento no qual consente a realização do estudo em suas dependências.

A coleta dos dados foi realizada de julho a setembro de 2013, por meio de planilhas semiestruturadas. Foram incluídos fichas e laudos de pacientes com idade igual ou superior a 18 anos e sendo excluídas fichas incompletas. Dos laudos que apresentaram algum tipo de alteração foram analisadas as seguintes variáveis: faixa etária das pacientes no momento do diagnóstico; escolaridade das mesmas; tempo da última realização do exame citológico; microbiota acometida; uso de anticoncepcional ou hormonioterapia e classificação de lesão de acordo com laudo. O tratamento dos dados foi elaborado pelo programa Microsoft Excel 2010, através do qual foram desenvolvidos e apresentados por meio de tabelas e gráficos os resultados obtidos.

Este trabalho trata de um levantamento de dados não causando assim nenhum dano previsto aos indivíduos vinculados à pesquisa, pois não houve contato algum com os pacientes. Todos os dados obtidos foram de total sigilo, mantendo a preservação da identidade das pacientes, divulgando apenas os de interesse da pesquisa, como idade e grau de escolaridade. O projeto foi submetido à Plataforma Brasil, tendo sido aprovado pelo comitê de ética sob o parecer de nº 325.583.

RESULTADOS

Foram estudados laudos de 3.831 mulheres submetidas ao exame de citologia oncológica realizado na Unidade de Saúde do Jardim Progresso da cidade de Anápolis,GO, dos quais apenas 24 apresentaram algum tipo de alteração. Em meio a esses, apenas nove laudos eram positivos para NIC e 15 eram de significado indeterminado. O período em que mais houve amostras positivas em relação ao total estudado foi de janeiro a julho de 2013 com 0,39% (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição e percentual de mulheres submetidas ao exame de citologia oncológica por semestre, na Unidade Jardim Progresso, no período entre janeiro/2012 a julho/2013.

Período	Nº Total de amostras	Nº Amostras alteradas	%
Jan - Jun/12	1206	3	0,08%
Jul - Dez/12	1189	6	0,15%
Jan - Jul/13	1436	15	0,39%
Total	3831	24	0,62

Dentre estas amostras positivas, a faixa etária mais frequente foi de 31 a 40 anos (45,84%), seguida de 20 a 30 anos (29,16%) (Figura 1). A paciente mais jovem tinha 23 anos e a mais idosa, 59 anos de idade.

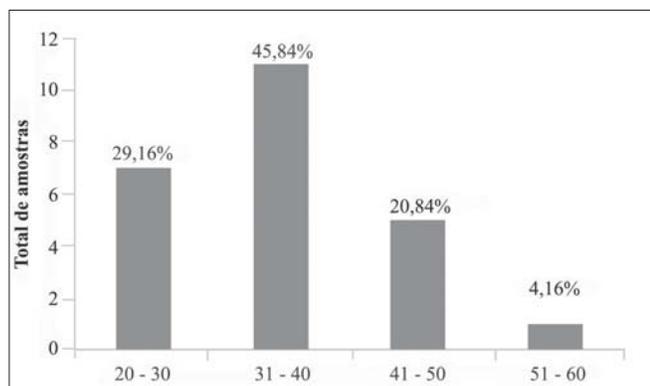


Figura 1. Faixa etária das pacientes diagnosticadas com alterações nos resultados citológicos atendidas na Unidade de Saúde do Jardim Progresso da cidade de Anápolis- GO no período de janeiro de 2012 a julho de 2013.

Quanto ao grau de escolaridade, foi possível verificar que 45,83% das pacientes tinham o ensino fundamental incompleto, 41,68% cursaram o primeiro grau e ensino médio completo, 4,16% concluíram o ensino superior e 8,33% não constavam nas fichas (Figura 2).

Dos resultados estudados que apresentaram alterações, 13 mulheres informaram ter feito o exame há menos de dois anos e somente três mulheres não informaram o último período da realização do exame nas fichas citopatológicas (Figura 3).

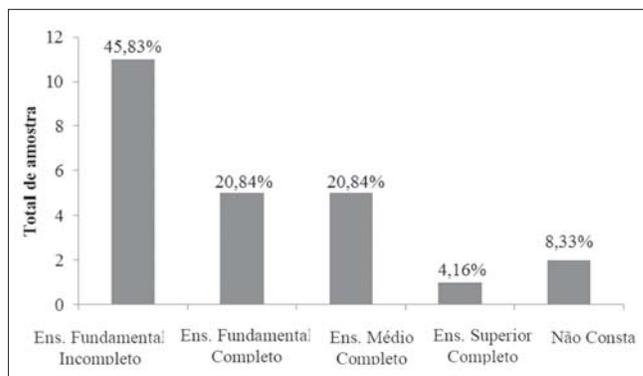


Figura 2. Escolaridade das pacientes submetidas ao exame de citologia na Unidade de Saúde do Jardim Progresso que foram diagnosticadas com alterações nos resultados.

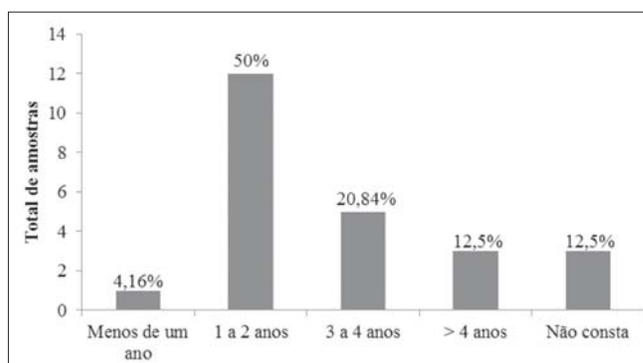


Figura 3. Percentual do período em que as pacientes diagnosticadas com alterações nos resultados realizaram o último exame preventivo.

Com referência à análise microbiológica dos exames citopatológicos que apresentaram algum tipo de alteração (Figura 4), foi verificada que a colonização cérvico-vaginal se deu principalmente por lactobacilos presentes em 50% das amostras, seguidos por cocos e *Gardnerella/Mobiluncus* presentes em 29,16% e 20,84% das amostras, respectivamente.

Das 24 pacientes diagnosticadas com alterações significativas, 20,83% faziam uso de anticoncepcional oral e nenhuma de hormonioterapia.

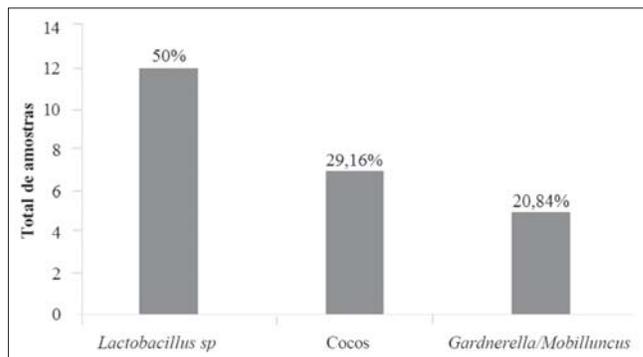


Figura 4. Percentual de microrganismos presentes nas amostras positivas dos exames citológicos.

Na análise dos exames citológicos, verificou-se a presença de alterações epiteliais em diferentes graus de evolução (Figura 5). Entre essas amostras, 62,50% compreendiam atipias de significado indeterminado, 20,84% apresentavam lesão de baixo grau (HPV/NIC I), 8,33% lesão de alto grau (NIC II/NIC III) e 8,33% lesão de alto grau (NIC III/ Carcinoma *in situ*).

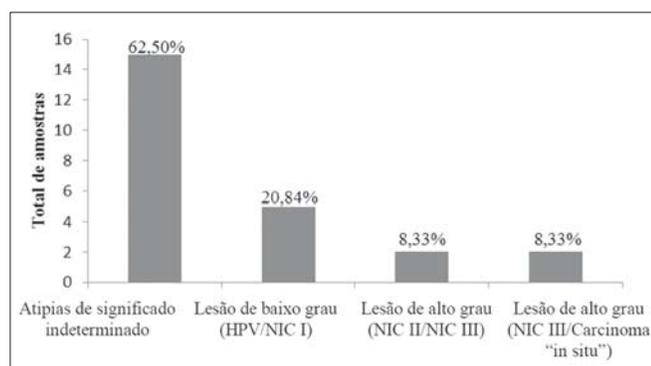


Figura 5. Percentual de alterações epiteliais em diferentes graus de evolução, NIC's (Neoplasias intraepiteliais cervicais).

DISCUSSÃO

Nos laudos que apresentaram alterações obteve-se como faixa etária mais cometida a meia idade, entre 31-40 anos (Figura 1). Resultados semelhantes foram encontrados em estudos desenvolvidos pela Universidade de Castelo Branco, RJ, que descreveram como faixa etária mais afetada de 41 a 45 anos, seguida de 36 a 40 anos.⁽¹¹⁾ Normalmente, o primeiro contágio pelo HPV ocorre na adolescência devido ao início precoce da vida sexual; após isso, é provável um longo período de evolução, o que poderia justificar a incidência em mulheres de meia idade.⁽¹²⁾ Nos últimos anos, a incidência do câncer cervical vem crescendo consideravelmente, e, quando diagnosticado em mulheres jovens, na maioria das vezes ele é associado ao HPV.⁽³⁾

Observou-se nas fichas das pacientes do presente estudo, que fizeram o exame no período de janeiro de 2012 a julho de 2013, uma baixa escolaridade (Figura 2). Estudos semelhantes apresentaram percentual maior que 65% das mulheres com ensino fundamental incompleto ou analfabetas.^(12,13) Os baixos fatores socioeconômico e educacional são características do perfil de usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS).⁽¹²⁾ Bezerra et al.⁽¹⁴⁾ descreveram em seu trabalho que mulheres com maior grau de instrução buscam mais informações, preocupam-se mais com a saúde e realizam exames periodicamente, aumentando as chances de um diagnóstico precoce.

Em relação ao tempo em que foi realizado o exame preventivo, esse estudo mostra que 54,16% encontravam-se no período de até dois anos de intervalo de um exame

ao outro (Figura 3). Domingos et al.⁽¹⁵⁾ encontraram resultados similares, com 46,6% das mulheres estudadas tendo feito o exame anualmente. Um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento do câncer cervical é a não realização do exame preventivo,⁽¹⁶⁾ que é importante para detectar lesões precursoras do câncer.⁽³⁾ O aumento da frequência de realização da prevenção se deve ao maior acesso às informações, campanhas de conscientização e maior cobertura preventiva pelas unidades de saúde.⁽¹⁶⁾

Com base nos resultados da análise microbiológica, foi verificada que a colonização cérvico vaginal se deu principalmente por *Lactobacillus* sp., seguidos por cocos e *Gardnerella* (Figura 4), sendo essa mesma incidência encontrada em estudo semelhante.⁽¹⁷⁾ Souza e Vianna⁽¹¹⁾ encontraram maior colonização por cocos, acompanhado por lactobacilos. Acredita-se que esses microrganismos não sejam os agentes causadores do câncer do colo do útero. Alterações cérvico-vaginais, como mudanças no nível de pH, podem ser causadas pelo HPV ou outros tipos de lesões, levando a processos infecciosos por microrganismos bacterianos.⁽¹⁸⁾ Esses microrganismos podem estar presentes também por serem relacionados a fatores como múltiplos parceiros sexuais, início precoce da vida sexual e aos maus hábitos de higiene.⁽¹⁹⁾

Nenhuma das fichas selecionadas para o estudo relatou o uso de hormonioterapia, e uma pequena parcela (20,83%) indicava o uso de contraceptivo oral. Em outro trabalho foi encontrado resultado aproximado em relação ao número de mulheres que faziam o uso de anticoncepcional oral (33,3%), e 26,7% não faziam uso de nenhum método contraceptivo.⁽²⁰⁾ O uso do método contraceptivo oral pode colaborar com a evolução da lesão da cérvix causada pelo HPV por interagir com as oncoproteínas virais, facilitando o desenvolvimento do câncer do colo do útero.⁽⁵⁾ Murta et al.⁽²¹⁾ descrevem o uso de anticoncepcional oral, quando associado a outros fatores, como, por exemplo, às alterações genéticas e alguns tipo de HPV, como responsáveis pelas mudanças nas células e na evolução das lesões de baixo e alto grau. Outra questão a ser estudada é sobre a liberdade sexual das usuárias de anticoncepcional oral e o número de parceiros com que se relacionam. Porém, este não é o objetivo do presente trabalho, podendo vir a ser discutido futuramente.

De acordo com os resultados obtidos, pôde-se observar alterações epiteliais em diferentes graus de evolução. Atipias de significado indeterminado representaram mais de 60% das amostras que apresentavam algum tipo de alteração, verificando-se também, entre os laudos, que a lesão de baixo grau foi maior em relação às lesões de alto grau (Figura 5). Nunes et al.⁽²²⁾ observaram em sua pesquisa uma porcentagem de 64,5% de atipias de significado indeterminado; esse mesmo estudo também apresentou uma porcentagem maior de lesão de baixo grau (HPV/NIC

l) seguida de lesões de alto grau. As atipias de significado indeterminado são anormalidades celulares mais acentuadas que as alterações reativas, não permitindo um diagnóstico definitivo da lesão. Por isso, as pacientes que obtiveram esse resultado no laudo devem repetir a citologia entre quatro a seis meses após o último exame.⁽²³⁾

Em quase 90% dos casos, o câncer cervical evolui a partir das neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC's), porém nem sempre elas levam a um processo invasor devido à sua grande probabilidade de regressão.⁽²⁴⁾ Cerca de 10% a 20% das mulheres são portadoras de infecção latente pelo HPV, já que sua presença é comum na população normal. Os tipos oncogênicos de HPV são importantes na origem das lesões pré-cancerosas, contudo necessitam de outros cofatores, tais como perda do controle celular e deficiências imunológicas para levar ao surgimento das lesões, já que estes podem alterar o controle que uma célula exerce sobre a infecção pelo HPV. Outras infecções como as DST's e o uso de anticoncepcional oral/hormonioterapia também podem ser fatores de risco.⁽¹⁸⁾

Estimativas do ano de 2012 apontaram o estado de Goiás como o maior prevalente do câncer do colo do útero da região centro-oeste, com 820 casos por 100 mil mulheres, tendo também sua capital Goiânia o maior número de casos quando comparada a outras capitais da região Centro-Oeste, apresentando 220 casos por 100 mil mulheres.⁽³⁾ O presente estudo obteve 0,62% de laudos com algum tipo de alteração, não podendo afirmar que os mesmos são ou evoluirão para câncer do colo do útero, porém dois casos foram conclusivos para carcinoma *in situ*. O valor encontrado não é tão significativo devido à pequena amostragem que foi feita neste trabalho, sendo interessante que se faça um novo estudo, contendo uma maior quantidade de dados, para se ter uma ideia mais real do número de mulheres com câncer uterino na cidade de Anápolis, GO.

CONCLUSÃO

Esse estudo demonstrou que a baixa escolaridade e a falta de informação são fatores que colaboram para o desenvolvimento do câncer do colo do útero. A faixa etária mais acometida foi a da meia idade, devido ao longo período de evolução do vírus. Dos laudos analisados, mais da metade era de significado indeterminado, não podendo concluir o diagnóstico para câncer por HPV.

Esse foi o primeiro estudo desta natureza na Unidade Cais Progresso, que tem uma grande demanda de atendimento à população, principalmente às mulheres. As características destas pacientes aqui estudadas, bem como a identificação dos fatores de risco, servem para traçar um perfil epidemiológico da comunidade e servir de estímulo para os serviços de saúde local, para a prevenção e a promoção da saúde.

Agradecimentos

Agradecemos ao Laboratório Goiano de Patologia e Citologia - Lagpac, que nos forneceu os dados com confiabilidade. À nossa orientadora Ms. Maria Adriana Santos Carvalho, pelo apoio e dedicação. Agradecemos também à Esp. Rosângela Reis, que se dedicou em nos auxiliar no desenvolvimento deste trabalho.

Abstract

Objective: Aiming to analyze the prevalence of cytological findings suggestive of infection HPV. **Methods:** This study it is a descriptive quantitative study, which used as a source of data acquisition, data sheets and reports of cytopathology of patients referred to the Unit Pier Progress city of Anapolis, GO. **Results:** 3.831 records of women subjected to examination were studied, revealing only 24 reports with some changes, of which only nine were classified with some type of NIC. **Conclusion:** There was a higher incidence of HPV in middle-aged women with lower educational level. This study was the first of its kind in the Unity Pier Progress, serving as stimulus for local health services and health promotion.

Keywords

Sexually transmitted diseases; Cervix neoplasms prevention; Uterine cervical diseases

REFERÊNCIAS

1. Zampirolo JA, Merlin JC, Menezes ME. Prevalência de HPV de baixo e alto risco pela técnica de biologia molecular (Captura Híbrida II®) em Santa Catarina. Rev. bras anal clin. 2007;39(4):265-8.
2. Souza DRA, Catão RMR. Importância do conhecimento sobre Papilomavírus Humano: Considerações gerais. Rev Bio Far, vol. 8, n. 2, 2011.
3. INCA. Instituto Nacional do Câncer. Colo do Útero. Rio de Janeiro, 2013 [acesso em 21 de mai 2013]; Disponível em: http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/ tiposdecancer/site/home/colo_uterio/definicao.
4. INCA. Instituto Nacional do Câncer. Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero. Rio de Janeiro, 2011 [acesso em 17 de mar 2013]. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/Diretrizes_rastreamento_cancer_colo_uterio.pdf.
5. Coser J, Fontoura S, Belmonte C, Vargas VRA. Relação entre fatores de risco e lesão precursora do câncer do colo do útero em mulheres com e sem ectopia cervical. Rev. bras anal clin. 2012; 44(1):50-4.
6. Oliveira MMHN, Silva AAM, Brito LMO, Coimbra LC. Cobertura e fatores associados à não realização do exame preventivo de Papanicolau em São Luis, Maranhão. Rev Bras Epid. 2006;9:325-34.
7. Ferraz LC, Santos ABR, Discacciati MG. Ciclo celular, HPV e evolução da neoplasia intraepitelial cervical: seleção de marcadores biológicos. J Health Sci Inst. 2012;30(2): 107-11.
8. Brigel APV, Rodrigues MPF, Vidal ECF. Análise dos laudos de Papanicolau realizados em uma unidade básica de saúde. Rev Cogitare Enferm. 2012;17:745-51.
9. Davim RMB, Torres GV, Silva RAR, Silva DAR. Conhecimento de mulheres de uma Unidade Básica de Saúde da cidade de Natal/RN sobre o exame de Papanicolau. Rev Esc Enferm USP. 2005;39(3): 296-302.
10. Fonseca KCLE, Silveira LVPC, Pacheco JBP. Prevalência das neoplasias intraepiteliais cervicais em mulheres atendidas pela unidade de ações e saúde da mulher e do adolescente da cidade de Anápolis, GO. Anuário da Produção de Iniciação Científica Descendente. 2011;13(17):151-63.

11. Souza LG, Vianna ACC. Análise dos exames colpocitopatológicos de clientes atendidas pelo ambulatório de ginecologia preventiva do Hospital Geral de Bonsucesso, RJ, no período entre maio/2004 e abril/2005. Rev Eletr Novo Enfoque [periódico na Internet]. 2010;5:1-16. Disponível em: <http://www.castelobranco.br/sistema/novoenfoque/files/05/03.pdf>
12. Teles CCGD, Ferrari R. Lesões precursoras para câncer de colo uterino e os aspectos sociodemográficos das portadoras. Revista Eletrônica Gestão & Saúde. 2012;3(3):865-79.
13. Guedes TG, Pordeus AMJ, Rocha MA, Diogenes D. Análise epidemiológica de câncer de colo de útero em serviço de atendimento terciário no Ceará - Brasil. Rev Bras Prom Saúde. 2005;18(4):205-10.
14. Bezerra SJS, Gonçalves PC, Franco ES, Pinheiro AKB. Perfil de mulheres portadoras de lesões cervicais por HPV quanto aos fatores de risco para câncer de colo uterino. DST - J bras Doenças Sex Transm. 2005;17(2):143-8.
15. Domingos ACP, Murata IMH, Pelloso SM, Schirmer J, Carvalho MDB. Câncer do colo do útero: comportamento preventivo de autocuidado à saúde. Cienc Cuid Saude 2007;6(Suplem. 2):397-403
16. Albuquerque KM, Frias PG, Andrade CLT, Aquino EML, Menezes G, Szwarcwald CL. Cobertura do teste de Papanicolau e fatores associados à não realização: um olhar sobre o programa de prevenção do câncer de colo de útero em Pernambuco, Brasil. Cad. Saúde Pública [Internet]. 2009; 25(Suppl 2) : s301-s309. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2009001400012&lng=en.
17. Medeiros VCRD, Medeiros RC, Moraes LM, Menezes JB, Ramos ESN, Saturnino ACRD. Câncer de colo de útero: Análise epidemiológica e citopatológica no estado do Rio Grande do Norte. Rev Bras Anal Clin. 2005 out.;37(4):227-31.
18. Koss LG, Gompel C. Introdução a citopatologia ginecológica com correlações histológicas e clínicas. 1ª.ed. São Paulo: Editora Roca LTDA., 2006.
19. Ribeiro AA, Oliveira DF, Sampaio MCN, Carneiro MAC, Tavares SBN, Souza NLA, et al. Agentes microbiológicos em exames citopatológicos: estudo de prevalência. Rev. Bras. Anal. Clin. 2007; 39(3):179-81.
20. Pelloso SM, Carvalho MDB, Higarashi IH. Conhecimento das mulheres sobre o câncer cérvico-uterino. Act Scie Health Sci, vol. 26, n 2, pag. 319-324. Maringá, 2004.
21. Murta EFC, Souza MAH, Adad SJ, Junior EA. Infecção pelo Papilomavírus Humano em adolescentes: Relação com o método anticoncepcional, gravidez, fumo e achados citológicos. Rev Bras Ginecol Obstet [Internet]. 2001 May ;23(4):217-21. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032001000400004&lng=en.
22. Nunes RD, Nascimento MD, Zuffo SF, Herreira SD, Disconzi TQ. Diagnósticos para câncer de colo do útero: Uma análise dos registros da secretaria de saúde de um município do Tocantins. Revista Amazônia. 2013;1(2):7-12.
23. Junior JE. Noções básicas de citologia ginecológica. 1ª.ed. São Paulo: Livraria Santos Editora Ltda., 2009.
24. INCA. Instituto Nacional do Câncer. Condutas do INCA/MS. Neoplasia Intra-epitelial Cervical. Rev. Bras. Cancerol. 2000. Out-Dez; 46 (4): 355-7.

Correspondência

Larisse Silva Dalla Libera

Avenida Universitária, 683 – Centro
75080-150 – Anápolis, GO, Brasil

Avaliação das provas da hemostasia primária em indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana

Evaluation of primary hemostasis tests of individuals treated in dental clinics at the State University of Feira de Santana

Nayane Castro Bittencourt¹

Pedro Nascimento Prates Santos²

Resumo

Os testes para avaliar a hemostasia são indicados para a realização de diagnóstico diferencial de sangramentos e trombozes nos seres humanos. Na prática odontológica, as provas de coagulação são prescritas para investigação de sangramentos espontâneos e para avaliação do estado de hemostasia do paciente antes da realização de procedimentos cirúrgicos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as provas de coagulação dos indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas pertencentes à Universidade Estadual de Feira de Santana, no período de junho de 2011 a novembro de 2012. Os resultados evidenciaram que a maioria da população estudada apresenta valores dentro da normalidade para as variáveis investigadas. Neste estudo, 1,6% dos indivíduos apresentaram tempo de sangramento acima dos três minutos. Para este estudo, houve associação estatisticamente significativa entre a variável Sexo dos entrevistados e a Contagem de plaquetas ($\chi^2=8,159$; $p=0,017$). Tem crescido o número de estudos que visam à avaliação dos aspectos clínicos relacionados com as provas de hemostasia em populações diversas. A busca por associações entre as alterações do perfil da hemostasia causadas por inúmeros fatores pode auxiliar os profissionais da área de saúde que prescrevem estes exames, tornando-se um instrumento que permita maior segurança nas intervenções clínicas e cirúrgicas.

Palavras-chave

Hemostasia; Coagulação sanguínea; Cuidados pré-operatórios

INTRODUÇÃO

A função básica do sangue é o transporte de células, de nutrientes, de catabólitos, entre outras substâncias. Para realizar esta função de maneira adequada, o sangue deve permanecer no estado fluido dentro dos vasos. No entanto, quando ocorre uma lesão vascular, o sangue pode alterar sua fluidez devido à formação do trombo branco e da malha de fibrina, por meio da agregação plaquetária e coagulação sanguínea, gerando um tampão hemostático rico nestes elementos, visando à redução da perda sanguínea. O tampão hemostático que se forma tem a finalidade de servir de arcabouço sobre o qual ocorrerá a reparação do tecido lesado; desempenhado suas funções, este deve ser removido para que a luz do vaso e o fluxo de sangue retornem às suas características normais. Esse conjunto de mecanismos é caracterizado como hemostasia.⁽¹⁾

A formação do coágulo de fibrina no sítio de lesão endotelial representa processo crítico para a manutenção da integridade vascular. Os mecanismos envolvidos nesse processo, constituintes do sistema hemostático, devem ser regulados para, simultaneamente, contrapor-se à perda excessiva de sangue e evitar a formação de trombos intravasculares decorrentes de formação excessiva de fibrina. O equilíbrio funcional dos diferentes "setores" da hemostasia é garantido por uma variedade de mecanismos, envolvendo interações entre proteínas, respostas celulares complexas e regulação de fluxo sanguíneo.⁽²⁾

Alguns indivíduos apresentam anormalidades da coagulação sanguínea, podendo haver uma incapacidade de coagular normalmente e, por conseguinte, de evitar a ocorrência de graus anormais de perda de sangue do sistema vascular, ou, em outros casos, a coagulação excessiva, devido à incapacidade do organismo de preveni-la. Estes

¹Acadêmica de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS – Feira de Santana, BA, Brasil.

²Mestre. Professor Assistente. Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS – Feira de Santana, BA, Brasil.

Instituição: Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS, BA, Brasil.

Suporte Financeiro: Edital de financiamento Interno 01/2009

Artigo recebido em 30/11/2012

Artigo aprovado em 20/01/2016

estados patológicos podem causar hemorragias em indivíduos durante procedimentos cirúrgicos ou, nos casos de coagulação excessiva, causar a formação descontrolada de trombos que danificam os vasos sanguíneos e os tecidos nutridos por eles. Neste sentido é de extrema importância a realização da determinação completa do estado de coagulação antes da realização de qualquer procedimento cirúrgico. Desta maneira, as provas da hemostasia são frequentemente utilizadas para avaliar o estado do paciente em relação à coagulação sanguínea, permitindo o acompanhamento das alterações patológicas ou do tratamento farmacológico utilizado, sendo, portanto, de grande importância para a avaliação do estado hemostático.

Na área de saúde é crescente a incorporação de exames complementares que deixaram de ter caráter subsidiário para se tornarem obrigatórios. Entre estes procedimentos destacam-se os exames laboratoriais, sendo estes já incorporados na rotina e inclusive na expectativa dos próprios usuários do sistema de saúde.⁽³⁾

De forma geral, os testes laboratoriais aplicados na avaliação da coagulação são indicados para a realização de diagnóstico diferencial de sangramentos diversos, entre outras patologias relacionadas à coagulação sanguínea. Nas clínicas odontológicas, as provas de coagulação são prescritas para investigação de sangramentos espontâneos e para avaliação do estado de hemostasia do paciente antes de procedimentos cirúrgicos.

No sentido de discutir sobre os conhecimentos adquiridos sobre a hemostasia primária, o presente estudo tem a finalidade de avaliar as provas da hemostasia primária em indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas pertencentes à Universidade Estadual de Feira de Santana, na Bahia.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo aplicado para mensuração do perfil dos exames laboratoriais utilizados para avaliar a hemostasia sanguínea de indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas pertencentes à Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) foi do tipo descritivo, de corte transversal e observacional, sendo empregado, ainda, para investigar a associação com dados clínicos e pessoais dos sujeitos da pesquisa. Os dados deste estudo foram obtidos no período compreendido entre junho de 2011 a novembro de 2012, no Laboratório de Análises Clínicas (LAC-UEFS).

A metodologia utilizada para seleção da população de indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas da UEFS seguiu ordem cronológica de entrada em relação ao atendimento no LAC-UEFS. Foram excluídos deste estudo indivíduos que: 1) não permitiram que seus dados laboratoriais, clínicos e sociais fossem utilizados nesta pesquisa, mesmo após o esclarecimento sobre seus objetivos; 2) não assinaram o Termo de Consentimento Livre

e Esclarecido aplicado durante a realização da entrevista; 3) não responderam ao formulário da pesquisa e; 4) não possuíam prescrição para realização do coagulograma na relação de exames solicitados.

Os dados referentes às provas de coagulação que foram avaliados neste estudo foram extraídos do *software* *Diagnosis*. A análise estatística dos dados coletados na pesquisa foi processada pelo pacote estatístico SPSS® 20.0.

Para caracterização dos dados da população estudada foram calculadas as médias, valores mínimos e máximos, desvio-padrão, sendo também confeccionados gráficos e tabelas de frequência para variáveis contínuas. Para as variáveis qualitativas ou categóricas foram determinadas as frequências relativas e absolutas das suas ocorrências. Para as medidas de associação entre as variáveis foi considerado como nível de confiança o valor de 95% e adotado o nível de 0,05 de significância.

Este estudo faz parte de um projeto de pesquisa, o qual foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da UEFS (CEP/UEFS) com protocolo de número CAAE 0133.0.059.000-09, e aprovado para sua realização em 15 de janeiro de 2010 segundo Ofício de número 008/2010 expedido pelo CEP-UEFS.

RESULTADOS

A determinação das características sobre os dados pessoais e clínicos, bem como das provas de hemostasia primária, foi feita a partir dos dados obtidos em entrevistas realizadas com 66 indivíduos atendidos no LAC/UEFS, no período compreendido entre junho de 2011 a novembro de 2012.

Foram determinadas as frequências relativas e absolutas das covariáveis categóricas, sendo consideradas neste inquérito as variáveis: 1) sexo; 2) idade; 3) Índice de Massa Corpórea; 4) Presença de sangramento anterior; 5) Formação de manchas roxas; 6) Presença de varizes; 7) Uso de medicamentos; 8) Hábito de fumar; e, 9) Hábito de ingerir bebida alcoólica. Para as variáveis dependentes contínuas (Tempo de Sangramento e Contagem de Plaquetas) foram calculadas as médias, valores mínimos e máximos, desvio-padrão, sendo também confeccionados gráficos de distribuição de frequência.

Analisando a variável Sexo na população estudada verificou-se que as mulheres são a maioria (63,6%), enquanto que os homens representaram 36,4% da população estudada (Figura 1).

Para a variável IMC, a maior parte dos indivíduos (57,9%) encontra-se com peso normal. Os indivíduos com peso baixo representam 10,9% e os que apresentam sobrepeso e obesidade somam 31,2% da população. Dados referentes ao IMC dos indivíduos estão descritos na Tabela 1.

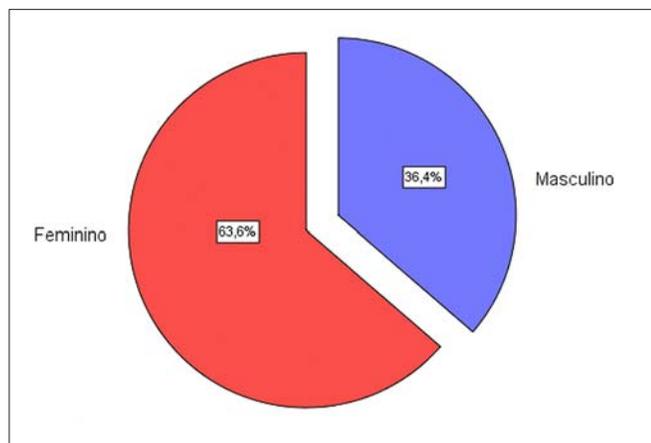


Figura 1. Porcentagem da variável sexo dos indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas pertencentes à UEFS e que realizaram exames laboratoriais no LAC/U no período compreendido entre junho de 2011 e abril de 2012.

Tabela 1 - Porcentagem dos indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas pertencentes à UEFS e que realizaram exames laboratoriais no LAC/UEFS no período compreendido entre junho de 2011 e abril de 2012 categorizados pelo IMC

Categoria	%
Peso baixo	10,9
Peso normal	57,9
Sobrepeso	23,4
Obesidade	07,8
Total	100

Para a variável idade, os sujeitos da pesquisa apresentaram um mínimo de 16,0 e máximo de 75,0 anos, com média de idade de $36,0 \pm 16,2$ anos. Analisando a Figura 2, observa-se uma predominância de indivíduos nas faixas de 20 a 40 anos de idade. A comparação entre a curva de distribuição normal esperada e a curva de distribuição de idade observada revela que não há uma distribuição homogênea na população em relação à idade.

A análise das variáveis clínicas, descritas na Tabela 2, demonstra que 83,3% dos entrevistados já tiveram sangramento anterior, enquanto que 16,7% afirmaram que não. Quando questionados sobre a formação de manchas roxas de forma espontânea, sem que houvesse trauma, 21,8% da população estudada afirmou já ter apresentado algum tipo de mancha roxa na pele e 78,2% afirmaram que nunca apresentaram. De acordo com os resultados obtidos, as veias varicosas atingem 37,9% da população estudada, enquanto 62,1% não as possuem. Os indivíduos que utilizam algum tipo de medicamento de forma contínua representam 37,9% da população, enquanto que 62,1% afirmam não fazer uso de medicamento. Dentre os medicamentos descritos pelos entrevistados estão contraceptivos orais, psicotrópicos, anti-hipertensivos e suplementos alimentares.

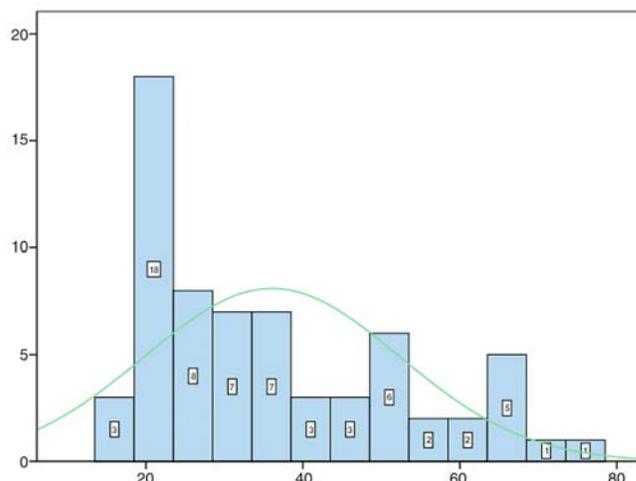


Figura 2. Distribuição da frequência de idade dos indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas pertencentes à UEFS e que realizaram exames laboratoriais no LAC/U no período compreendido entre junho de 2011 e abril de 2012

Tabela 2 - Variáveis clínicas dos indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas pertencentes à UEFS e que realizaram exames laboratoriais no LAC/UEFS no período compreendido entre junho de 2011 e abril de 2012 categorizados pelo IMC

Variáveis clínicas	Sim%	Não%
Presença de sangramento anterior	16,7	83,3
Formação de manchas roxas	21,8	78,2
Presença de varizes	37,9	62,1
Uso de medicamentos	37,9	62,1
Hábito de fumar	07,6	92,4
Hábito de bebida alcoólica	31,8	68,2

O hábito de fumar é um fator de risco importante ao se analisarem problemas relacionados com a coagulação sanguínea, pois promove a formação de trombos.⁽⁴⁾ Neste sentido, quando questionado a respeito, apenas 7,6% dos entrevistados afirmaram possuir o hábito, contra 92,4% que afirmaram não fumar. O etilismo está também associado a problemas hemostáticos e foi referido por 31,8% dos entrevistados, sendo que a maior parte destes afirmou consumir bebidas alcoólicas apenas ocasionalmente, portanto, a maioria da população (62,2%) afirmou não possuir o hábito de ingerir bebida alcoólica.

A variável dependente Tempo de Sangramento apresentou média de 75,7 segundos (1min16seg) com desvio padrão de 33,6 segundos, sendo que o menor tempo de sangramento foi de 30,0 segundos e o maior foi de 210,0 segundos (3min30seg). Nesta pesquisa 1,6% dos indivíduos tiveram um tempo de sangramento acima dos 180 segundos (3min00seg), considerado como valor referencial para esta análise, representando potencialmente a possibilidade, para estes indivíduos, de possuírem alteração na

hemostasia primária,⁽⁵⁾ repercutindo em possibilidade de sangramento ao serem submetidos a procedimentos invasivos. Dados referentes ao tempo de sangramento são apresentados na Figura 3.

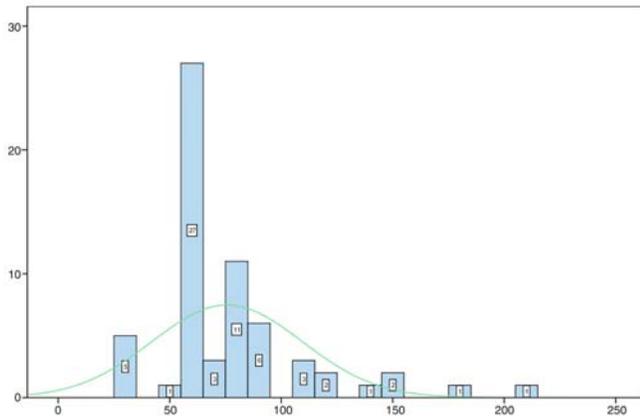


Figura 3. Distribuição da frequência do Tempo de Sangramento em segundos dos indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas pertencentes à UEFS e que realizaram exames laboratoriais no LAC/UEFS no período compreendido entre junho de 2011 e abril de 2012

A contagem de plaquetas dos sujeitos da pesquisa, de acordo com os dados apresentados na Figura 4, apresentou uma média de 305.844 plaquetas/mm³ com valor mínimo de 176.000 plaquetas/mm³, máximo de 420.000 plaquetas/mm³ e desvio-padrão de 60.016 plaquetas/mm³. Portanto, todos os valores obtidos para este parâmetro estão dentro da faixa considerada como valor de referência. Vale ressaltar que a análise isolada da contagem de plaqueta serve como parâmetro quantitativo e não avalia de forma eficiente a função plaquetária, sendo necessária a avaliação em conjunto com o Tempo de Sangramento para melhor interpretação dos resultados.⁽⁶⁾

Para a análise de associação entre as variáveis foi utilizado o teste estatístico do Qui-quadrado (χ^2) com nível de significância de 95% ($p < 0,050$) e, para tanto, as variáveis dependentes quantitativas foram categorizadas em faixas de grupos. As variáveis dependentes (Contagem de plaquetas e Tempo de sangramento) foram associadas às variáveis independentes (Idade, Sexo, Índice de Massa Corpórea, Presença de sangramento anterior, Presença de manchas roxas, Presença de varizes, Uso de medicamentos, Hábito de fumar e Hábito de beber).

De acordo com os resultados obtidos, a variável dependente Contagem de plaquetas só obteve resultado estatisticamente significativo quando relacionado com a variável Sexo. Já a variável dependente Tempo de sangramento não obteve correlação com nenhuma das variáveis independentes consideradas neste estudo. (Tabela 3).

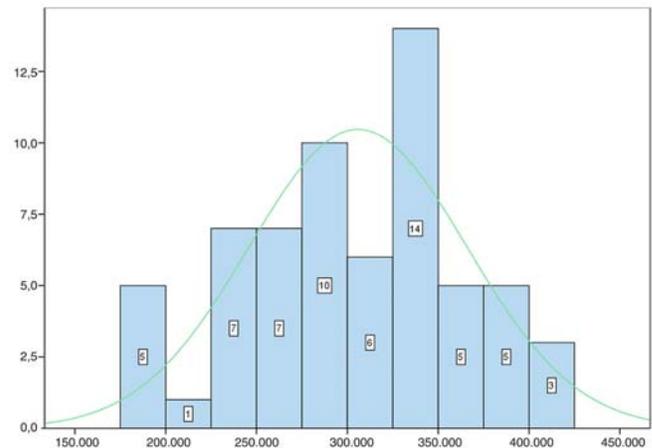


Figura 4. Distribuição da frequência do número de plaquetas nos indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas pertencentes à UEFS e que realizaram exames laboratoriais no LAC/UEFS no período compreendido entre junho de 2011 e abril de 2012

Tabela 3. Análise estatística exploratória das variáveis obtidas no estudo realizado com os indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas pertencentes à UEFS e que realizaram exames laboratoriais no LAC/UEFS no período compreendido entre junho de 2011 e abril de 2012 categorizados pelo IMC

Variáveis independentes	Variáveis dependentes	
	Contagem de plaquetas	Tempo de sangramento - TS
Idade	$\chi^2 = 4,858$ $p = 0,963$	$\chi^2 = 5,110$ $p = 0,530$
Sexo	$\chi^2 = 8,159$ $p = 0,017$	$\chi^2 = 0,238$ $p = 0,538$
IMC	$\chi^2 = 2,180$ $p = 0,902$	$\chi^2 = 1,022$ $p = 0,796$
Sangramento anterior	$\chi^2 = 2,365$ $p = 0,307$	$\chi^2 = 0,213$ $p = 0,527$
Presença de manchas roxas	$\chi^2 = 0,921$ $p = 0,631$	$\chi^2 = 1,146$ $p = 0,376$
Varizes	$\chi^2 = 3,242$ $p = 0,198$	$\chi^2 = 0,300$ $p = 0,510$
Medicamentos	$\chi^2 = 2,769$ $p = 0,250$	$\chi^2 = 0,266$ $p = 0,490$
Hábito de fumar	$\chi^2 = 1,384$ $p = 0,500$	$\chi^2 = 0,349$ $p = 0,724$
Bebida alcoólica	$\chi^2 = 2,138$ $p = 0,343$	$\chi^2 = 0,091$ $p = 0,620$

DISCUSSÃO

Segundo Zee et al.,⁽⁷⁾ uma parcela significativa da população convive com alterações da hemostasia representadas pelas doenças trombóticas ou hemorrágicas, com uma ocorrência anual de um a três a cada mil indivíduos.

Estima-se que, no Brasil, existam cerca de 10 mil portadores de hemofilia A e B; além disso, existe um alto risco de tromboembolismo no período pós-cirúrgico, sendo as

requisições para exames laboratoriais pré-operatórios uma ferramenta importante para o diagnóstico dessas alterações já que muitas delas são evidenciadas somente em tais exames.^(8,9)

A partir dos dados obtidos com o estudo foi possível caracterizar a população atendida nas clínicas odontológicas pertencentes à UEFS, sendo esta formada em sua maioria por indivíduos do sexo feminino (63,6%), com valores dentro dos limites normais para a variável dependente Contagem de plaquetas, mas para a variável Tempo de sangramento 1,6% da população apresentou valores anormais neste parâmetro.

Para avaliação da hemostasia primária é preciso levar em consideração os aspectos quantitativos (Contagem de plaquetas) e qualitativos (Tempo de sangramento) para correta interpretação dos resultados. O achado isolado de uma destas determinações dificultaria a correta interpretação do perfil das provas utilizadas para avaliação desta etapa do processo hemostático.⁽¹⁰⁾

Assim como para as variáveis dependentes, os indivíduos que fizeram parte do estudo apresentaram valores normais para as variáveis independentes pesquisadas. Das associações realizadas entre as variáveis consideradas neste estudo, somente ocorreu correlação estatisticamente significativa entre as variáveis Contagem de plaquetas e Sexo dos indivíduos entrevistados. Este achado sugere que a correlação entre o número de plaquetas em relação ao sexo dos indivíduos merece investigação mais aprofundada.

Tem crescido o número de estudos que visam à avaliação dos aspectos clínicos relacionados com as provas de hemostasia em populações diversas, pois a busca por associações entre as alterações do perfil da coagulação e distúrbios hemostáticos causados por inúmeros fatores pode auxiliar os profissionais da área de saúde que prescrevem estes exames, tornando-se um instrumento que permita maior segurança nas intervenções clínicas e cirúrgicas.

Agradecimentos

Aos sujeitos desta pesquisa, que confiaram seus dados pessoais e contribuíram para a realização deste trabalho. Os autores agradecem ao corpo técnico do LAC-UEFS por permitir a utilização dos dados laboratoriais para a execução deste inquérito.

Abstract

Tests to evaluate hemostasis are indicated for the differential diagnosis of bleeding and thrombosis in humans. In dental practice coagulation blood tests are prescribed for the investigation of spontaneous bleeding and to assess the patient's hemostasis state before surgical procedures. This study aimed to evaluate coagulation tests in patients treated in dental clinics belonging to the State University of Feira de Santana from June 2011 to November 2012. The results showed that

the majority of the population was within normal range for the variables investigated. In this study, 1.6% of the patients showed a bleeding time over 3 minutes. For this study, there was a statistically significant association between the variables Gender of respondents and platelet count ($\chi^2 = 8.159$, $p = 0.017$). There is an increasing number of studies aiming to evaluate the clinical aspects related to hemostasis tests in diverse populations. The search for associations between the changes in the profile of hemostasis, caused by several factors, can help health care professionals who prescribe these tests, becoming a safer instrument in clinical and surgical procedures.

Palavras-chave

Hemostasis; Blood coagulation; Preoperative care

REFERÊNCIAS

1. Lorenzi TF. Atlas de hematologia: clínica hematológica ilustrada. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 659p
2. Franco RF. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. Medicina, Ribeirão Preto, 2001; 34:229-237.
3. Porto CC. Semiologia médica. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005; 1428p
4. Robbins SL, Cotran RS. Patologia: Bases Patológicas das Doenças. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005; 1592p
5. Wallach JB. Interpretação de exames laboratoriais. 7ª ed. Rio de Janeiro: Medsi & Guanabara Koogan, 2003; 1068p
6. Dieusaert P. Como prescrever e interpretar um exame laboratorial: guia prático de análises médicas. 2ª. ed. São Paulo: Organização Andrei, 2001;1091p
7. Zee RY, Glynn RJ, Cheng S, Stainer L, Rose L, Ridker PM. An evaluation of candidate genes of inflammation and thrombosis in relation to the risk of venous thromboembolism: The Women's Genome Health Study. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009 Feb;2(1): 57-62.
8. Goobie SM, Soriano SG, Zurakowski D, McGowan FX, Rockoff MA. Hemostatic changes in pediatric neurosurgical patients as evaluated by thrombelastograph. *Anesth Analg.* 2001 Oct;93(4): 887-92.
9. Rezende SM. Distúrbios da hemostasia: doenças hemorrágicas. *Rev Med Minas Gerais* 2010; 20(4):534-53.
10. Ravel R. Laboratório clínico: aplicações clínicas dos achados laboratoriais. 6ª ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 1997. 448p

Correspondência

Nayane Castro Bittencourt

*Departamento de Saúde (Módulo VI), Campus Universitário
Avenida Transnordestina, S/N – Novo Horizonte
44036-900 – Feira de Santana, BA, Brasil*

Avaliação da glicemia capilar e do percentil do índice de massa corpórea em estudantes do ensino médio

Evaluation of the capillary blood glucose and the body mass index percentile in high school students

Maria Esméria Corezola do Amaral¹

Isabella Bonilha de Oliveira²

Bruna Gabriela Bonilha Viana²

Resumo

Objetivo: O aumento na prevalência de sobrepeso e obesidade entre os adolescentes sugere alterações no estilo de vida, como alimentação hipercalórica e falta de atividade física regular. O monitoramento do *Diabetes mellitus* tipo 2 por meio da glicemia capilar (GC) é um dos alicerces do controle intensivo. Além da GC, é comum, em adolescentes, o uso do índice de massa corporal (IMC) em percentil na avaliação do grau de sobrepeso e obesidade. O propósito do estudo foi associar medidas antropométricas e valores da GC dos escolares de escolas públicas e privadas que visitaram o estande do curso de Biomedicina na 8ª Feira das Profissões do Centro Universitário Hermínio Ometto, em 2012. **Métodos:** A GC foi dosada através de um glicosímetro digital e as medidas antropométricas foram aferidas para determinação de excesso de peso e obesidade, adotando-se como referência pontos de corte em relação à idade e sexo do escolar. **Resultados:** Os resultados não mostram alteração de GC quando associada ao percentil dos escolares. No entanto foi verificado aumento de peso, da glicemia e do percentil do IMC de acordo com o aumento na idade. **Conclusão:** Conclui-se que, com a alta prevalência de sobrepeso e obesidade entre os adolescentes, estratégias de prevenção devem ser adotadas.

Palavras-chave

Obesidade; Glicemia; Estudantes

INTRODUÇÃO

O *Diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) é uma doença crônica, frequente, e sua prevalência vem aumentando rápida e continuamente nas últimas décadas, especialmente entre os estudantes, tornando-se um problema de saúde pública.⁽¹⁾ O diabetes está intimamente associado à obesidade. A obesidade também é uma doença crônica,⁽²⁾ sendo definida como excesso de gordura corporal, causada por uma associação entre dietas com alta densidade energética e um estilo de vida sedentário.⁽³⁾ A obesidade tem sido apontada como um dos fatores para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) e também para o surgimento da síndrome metabólica (SM). Nesse último caso, o acúmulo abdominal de gordura gera desordem no mecanismo metabólico, causando a SM, tendo como fator fisiopatológico a resistência à insulina,⁽⁴⁾ podendo progredir para doenças como o DM2 e doenças cardiovasculares,⁽⁵⁾ que estão aumentando no público jovem. Segundo a Socie-

dade Brasileira de Diabetes, o DM2 caracteriza-se pela presença de insulina, porém sua ação é dificultada pela obesidade. Ainda devido à ausência de sintomas clínicos, e se não detectada precocemente, pode levar a alterações patológicas como retinopatia, nefropatias e úlceras em pele.⁽⁶⁾ Atualmente, diante de uma população mundial de sete bilhões de pessoas, estima-se que 366 milhões serão portadores de *Diabetes mellitus*. A expectativa para o ano 2030, com população projetada de 8,4 bilhões de habitantes, é de que tenhamos 522 milhões de acordo com os dados recentes da *International Diabetes Federation*. O monitoramento da DM2 através da glicemia capilar (GC) é um dos fundamentos do controle da doença,⁽⁷⁾ e de substancial importância na avaliação do paciente.⁽⁸⁾ É um exame usado para monitoração da DM2, não tendo função de diagnóstico; qualquer valor alterado da GC o paciente deve ser encaminhado a um serviço de saúde.⁽⁹⁾

As DCNTs e a SM juntamente com o aumento da prevalência de sobrepeso entre crianças e adolescentes

¹Docente no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Centro Universitário Hermínio Ometto – UNIARARAS – Araras, SP, Brasil.

²Estudante de Biomedicina pelo Centro Universitário Hermínio Ometto – UNIARARAS – Araras, SP, Brasil

Instituição: Centro Universitário Hermínio Ometto – UNIARARAS – Araras, SP, Brasil

Artigo recebido em 05/12/2013

Artigo aprovado em 29/01/2016

representam um grave problema para a saúde dos mesmos em decorrência do surgimento precoce do DM2,⁽¹⁰⁾ já que a infância e adolescência são cruciais para se adquirir um estilo de vida saudável que permaneça por toda a vida.⁽¹¹⁾ Estudos relatam que o estilo de vida adotado por essa faixa etária não é saudável;⁽³⁾ a falta de atividades físicas regulares e a alimentação inadequada, favorecida pela sociedade moderna, são os principais responsáveis pelo aumento da incidência de DM2 no país. Estima-se que, dos indivíduos acometidos por esta etiologia, entre 80% e 90% são obesos, e o risco está diretamente associado ao aumento do índice de massa corporal (IMC).⁽³⁾ A antropometria é um parâmetro muito indicado para avaliar o estado nutricional coletivo.⁽¹²⁾ O IMC é um método antropométrico definido como peso em quilogramas dividido pelo quadrado da altura em metros (kg/m^2).⁽¹³⁾ A avaliação do IMC é recomendada com auxílio das curvas de referências. Porém, há necessidade de se determinarem os pontos de corte para avaliar sobrepeso e obesidade específicos para cada população.⁽¹⁴⁾ O ponto de corte pode ser definido como uma distância do valor médio, podendo ser expresso em percentil ou desvio padrão.⁽¹⁵⁾ O uso do IMC em crianças e adolescentes espalhou-se após a publicação de Must et al.,⁽¹⁶⁾ que apresentaram valores de percentis por idade e sexo. Em seguida, Cole et al.⁽¹⁷⁾ sugeriram valores de pontos de corte de acordo com critérios estatísticos de mortalidade e de continuidade dos valores de IMC com os adotados na fase adulta.⁽¹⁸⁾

Para a avaliação do IMC nos adolescentes, os pontos de corte considerados são: baixo peso aquele indivíduo que se encontra abaixo do percentil 5, eutrófico entre os percentis 5 e 85, sobrepeso quando se encontra um percentil maior ou igual a 85 e obesidade acima do percentil 95.⁽¹⁵⁾

A Feira das Profissões da FHO-UNIARARAS é considerada a maior do interior do estado de São Paulo, realizada todo ano, e permite aos visitantes conferir o dia a dia dos 31 cursos oferecidos pelo centro universitário. O curso de Biomedicina oferece a realização da GC aos visitantes. Considerando que a adolescência é um grupo de risco para desenvolver obesidade e, conseqüentemente, DM2, esse trabalho teve como objetivo avaliar medidas antropométricas e valores da GC dos estudantes, adolescentes de 15 a 26 anos que visitaram o estande do curso de Biomedicina na 8ª Feira das Profissões do Centro Universitário Herminio Ometto (FHO-UNIARARAS), em 2012.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal, e a amostra foi constituída por 185 escolares de ambos os sexos, estudantes do Ensino Médio de escolas públicas e particulares, com idade entre 15 e 26 anos, que passaram pelo estande da Biomedicina na Feira das Profissões - UNIARARAS 2012,

interessados em realizar a dosagem da GC. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Plataforma Brasil pelo número 013575/2012, e cada escolar recebeu um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, que foi assinado antes de realizar a participação voluntária.

A GC foi dosada utilizando-se um glicosímetro *Optium Xceed* em estudantes em jejum ou não (glicemia casual), e a interpretação dos resultados foi realizada conforme os parâmetros estabelecidos pelo Ministério da Saúde.⁽⁹⁾ Assim, escolares cuja glicemia de jejum fosse inferior a 100 mg/dL ou glicemia casual inferior a 140 mg/dL eram informados que o resultado estava normal. Os demais que apresentaram glicemia de jejum ou casual alteradas foram orientados a procurar um atendimento médico para realização de glicemia plasmática de jejum. As medidas antropométricas (peso e altura) foram coletadas com balança portátil e fita métrica para o cálculo do IMC, através da fórmula de Quetelet (kg/m^2) convertido em percentil de acordo com a idade e sexo, sendo baixo peso quando é abaixo do percentil 5, eutrófico entre os percentis 5 e 85, sobrepeso quando é maior ou igual ao percentil 85 e obesidade acima do percentil 95.

Testes estatísticos

Os dados foram analisados descritivamente por frequências absolutas (n) e relativas (%) para as variáveis quantitativas categóricas (GC, sexo, idade e percentil) segundo a média e erro padrão da média. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparar os grupos segundo variáveis relacionadas. Foi adotado o nível inferior a 5% ($P < 0,05$) de significância estatística e as análises foram realizadas no software GrandPad Prism versão 3.0.

RESULTADOS

Foram avaliados 185 estudantes, sendo que a frequência dos visitantes do sexo feminino foi de 70,2% enquanto que a masculina foi de 29,8%. Verificou-se que houve aumento em função da idade das variáveis analisadas, peso 62.5 ± 15.2 e GC 92.2 ± 16.3 como mostra a Figura 1. A prevalência do percentil abaixo de 5 foi de 7% para ambos os sexos. O percentil eutrófico foi encontrado em 59% dos meninos e 82% das meninas. A prevalência de sobrepeso (percentil ≥ 85) e obesidade (percentil ≥ 95) foi observada em 33% e 19% dos meninos avaliados, respectivamente. Já nas meninas, houve uma prevalência de 11% e 3%, respectivamente, para as mesmas variáveis.

Em relação à associação da GC em função do percentil, não foi observada correlação entre estes parâmetros, ou seja, a GC apresentou-se na faixa da normalidade em todos os percentis analisados (Figura 2).

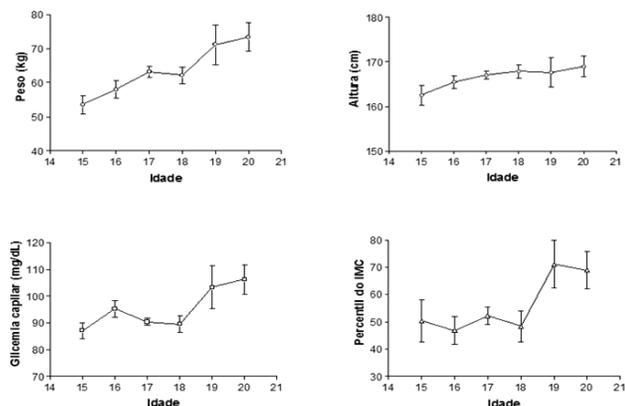


Figura 1. Peso, altura, glicemia capilar e percentil em IMC em função da idade dos escolares que passaram pela Feira das Profissões em 2012, no Centro Universitário Hermínio Ometto/Uniararas. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão.

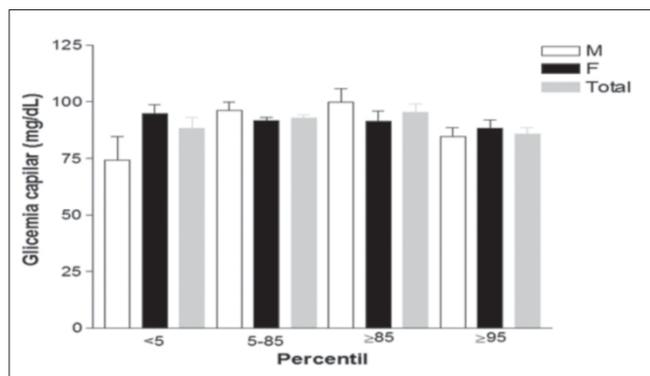


Figura 2. Associação da glicemia capilar e do percentil dos escolares que passaram pela Feira das Profissões em 2012, no Centro Universitário Hermínio Ometto/Uniararas. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão.

DISCUSSÃO

Em um estudo realizado com adolescentes entre 14 e 19 anos, independente da região geográfica, os de sexo masculino apresentaram mais chances de obesidade abdominal que o feminino, o que corrobora com os nossos resultados apresentados.⁽¹⁹⁾ Em contraste, a literatura mostra que o sobrepeso e a obesidade foram mais frequentes no sexo feminino.⁽¹⁸⁾ Já em outro estudo, a obesidade esteve positivamente associada com a faixa etária para ambos os sexos.⁽⁵⁾ Em relação aos estudos desenvolvidos no Brasil, uma pesquisa epidemiológica com adolescentes de 14 a 19 anos do estado de Pernambuco relatou prevalência de obesidade abdominal de 6,0%, significativamente superior no sexo feminino (6,7%) em comparação ao masculino (4,9%).⁽²⁰⁾ Outro estudo realizado entre adolescentes de escolas particulares da cidade de Fortaleza, com idade entre 12 e 17 anos, mos-

trou excesso de peso equivalente a 24,7% em ambos os sexos, dado que, além de favorecer o aparecimento do DM2, foi superior aos encontrados em outras investigações.⁽²¹⁾

No que diz respeito à associação da GC em função do percentil, Rocha et al.⁽⁴⁾ não apoiam a hipótese de que a presença de anormalidades do metabolismo glicídico per se estaria associada a pior perfil antropométrico, especialmente no que se refere à deposição abdominal de gordura. Em adição, há evidências bem fundamentadas da relação entre a qualidade da alimentação e os riscos de desenvolver o *Diabetes mellitus* No Brasil, as mudanças observadas no consumo alimentar constituem um importante fator de risco para o desenvolvimento do diabetes, independentemente do índice de massa corporal.⁽³⁾

CONCLUSÃO

O presente estudo sugere que, apesar do valor da GC exibir valores na faixa da normalidade em todos os percentis analisados, de ambos os sexos, na faixa etária entre 15 e 26 anos, observou-se aumento dos valores de GC, peso e percentil do IMC em função da idade. Observa-se que a monitoração do *Diabetes mellitus* pela GC fornece apenas dados do controle metabólico, não permitindo uma visão do perfil glicêmico do paciente. Apesar disso, a GC apresenta-se como importante ferramenta de triagem de saúde dos sujeitos que circulam lugares públicos, como na Feira das Profissões da Uniararas. Os resultados servem como alerta aos escolares e recomenda-se que estratégias de caráter educativo sejam adotadas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à coordenadora do curso de Biomedicina, Prof. Dra. Norma Geresa da Silva Mota, e aos professores Ms. Célia Figueiredo de Oliveira e Fernando Russo Costa do Bomfim, pela organização de Feira de Profissões da FHO/UNIARARAS, no ano de 2012.

Abstract

Objective: The increase in the prevalence of overweight and obesity among adolescents suggests changes in lifestyle such as high calorie diet and lack of regular physical activity. The monitoring of type 2 diabetes mellitus by capillary glycemia (CG) is one of the foundations of intensive control. Besides the GC is common in adolescents, the use of body mass index (BMI) percentile in the evaluation of the degree of overweight and obesity. The purpose of our study was anthropometric measurements and values of CG students from public and private schools that visited the booth of course Biomedicine in 8th Fair of Jobs' s Hermínio Ometto University in 2012. **Methods:** The CG was measured using a digital glucometer and anthropometric measurements were taken for determination of overweight and obesity, using as reference cutoffs in relation to age and sex of the school. **Results:** The results show no change in CG when associated percentile of school.

However was observed weight gain, blood glucose and the percentile of BMI in accordance with the increase in age. **Conclusion:** It is concluded that with the high prevalence of overweight and obesity among adolescents, prevention strategies should be adopted.

Palavras-chave

Obesity; Glucose; Students

REFERÊNCIAS

- Fernandes RA, Chritofado DGD, Codogno JS, Buonami C, Bueno DR, Oliveira AR, et al. Proposta de pontos de corte para indicação da obesidade abdominal entre adolescentes Arq. Bras. Cardiol. [Internet]. 2009 Dec;93(6): 603-9. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2009001200008&lng=en.
- Mendonça MRT, Silva MAM, Rivera IR, Moura AA. Prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes da cidade de Maceió. Rev Assoc Med Bras 2010; 56(2):192-6.
- Sartorelli DS, Franco LJ. Tendências do diabetes mellitus no Brasil: o papel da transição nutricional. Cad. Saúde Pública [Internet]. 2003; 19(Suppl 1): S29-S36. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2003000700004&lng=en
- Rocha NP, Siqueira-Catania A, Barros CR, Pires MM, Folchetti LD, Ferreira SRG. Análise de diferentes medidas antropométricas na identificação de síndrome metabólica, com ou sem alteração do metabolismo glicídico. Arq Bras Endocrinol Metab. 2010; 54(7):636-43.
- Vedana EHB, Peres MA, Neves J, Rocha GC, Longo GZ. Prevalência de obesidade e fatores potencialmente causais em adultos em região do Sul do Brasil. Arq Bras Endocrinol Metab. 2008;52(7):1156-62.
- Toldo EV, Ortega LN, Silva GEC, Bazotte RB. O papel da glicemia capilar na detecção e tratamento do diabetes mellitus tipo 2. Infarma. 2011;23(3/4):25-30.
- Neto DL, Robles FC, Dias FG, Pires AC. Avaliação da glicemia capilar na ponta de dedo versus locais alternativos - Valores, resultados e preferência dos pacientes. Arq Bras Endocrinol Metab. 2009 Apr;53(3): 344-7.
- Maia FFR, Araújo LR. Impacto do sistema de monitorização continuada glicose em pacientes diabéticos. Rev Assoc Med Bras. 2006;52(6):395-400.
- Ministério da Saúde/Organização Pan-Americana de Saúde. Avaliação do Plano de Reorganização da Atenção à Hipertensão Arterial e ao Diabetes Mellitus no Brasil. Ministério da Saúde, Organização Pan-Americana da Saúde - Brasília: Ministério da Saúde, 2004.
- Bernardon R, Silva JRM, Cardoso GT, Monteiro RA, Amorim NFA, Schmitz BAS, et al. Construção de metodologia de capacitação em alimentação e nutrição para educadores. Rev Nutr. 2009;22(3):389-98.
- Souza EA, Filho VC, B, Nogueira JAD, Júnior MRA. Atividade física e alimentação saudável em escolares brasileiros: revisão de programas de intervenção. Cad. Saúde Pública [Internet]. 2011 Aug;27(8): 1459-71. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2011000800002&lng=en
- Gomes FS, Anjos LA, Vasconcellos MTL. Antropometria como ferramenta de avaliação do estado nutricional coletivo de adolescentes. Rev Nutr. 2010;23(4):591-605.
- Araújo F, Yamada AT, Markus MRP, Antelmi I, Latorre MRDO, Mansur AJ. Aumento do índice de massa corporal em relação a variáveis clínicas e laboratoriais quanto ao sexo em indivíduos sem evidências de cardiopatia. Arq Bras Cardiol 2007; 88(6):624-9.
- Vanzelli AS, Castro CT, Pinto MS, Passos SD. Prevalência de sobrepeso e obesidade em escolares da rede pública do município de Jundiaí, São Paulo. Rev Paul Pediatr. 2008;26(1):48-53.
- Araújo ACT, Campos JADB. Subsídios para a avaliação do estado nutricional de crianças e adolescentes por meio de indicadores antropométricos. Alim Nutr. 2008;19(2):219-25.
- Must A, Dallal GE, Dietz WH. Reference data for obesity: 85th and 95th percentiles of body mass index (wt/ht²) and triceps skinfold thickness. Am. J. Clin. Nutr. 1991;53: 839-46.
- Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Diet WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. BMJ. 2000;320: 1240-3.
- Abrantes MM, Lamounier JÁ, Colosimo EA. Prevalência de sobrepeso e obesidade nas regiões Nordeste e Sudeste do Brasil. Rev Assoc Med Bras. 2003;49(2):162-6.
- Silva DAS, Pelegrini A, Silva AF, Grigollo LR, Petroski EL. Obesidade abdominal e fatores associados em adolescentes: comparação de duas regiões brasileiras diferentes economicamente. Arq Bras Endocrinol Metab. 2012;56(5):291-9.
- Cavalcanti CBS, Barros MVG, Meneses AL, Santos CM, Azevedo AMP, Guimarães FJSP. Obesidade abdominal em adolescentes: Prevalência e associação com atividade física e hábitos alimentares. Arq Bras Cardiol. 2010;94(3):371-7.
- Vasconcelos HCA, Araújo MFM, Damasceno MMC, Almeida PC, Freitas RWJF. Fatores de risco para diabetes mellitus tipo 2 entre adolescentes. Rev. esc. enferm. USP [Internet]. 2010 Dec; 44(4): 881-887. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0080-62342010000400004&lng=en.

Correspondência

Maria Esméria Corezola do Amaral,

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas,
Centro Universitário Herminio Ometto, UNIARARAS,
Avenida Dr. Maximiliano Barutto, nº 500, Jd. Universitário,
13607-339 – Araras, SP, Brasil,
Telefone: (19) 3543-1474.

Email: mariaesmeria@yahoo.com.br ou esmeria@uniararas.br

Strongyloides stercoralis e outros parasitas intestinais na população humana da região norte do Paraná identificados utilizando diferentes métodos parasitológicos

Strongyloides stercoralis and other intestinal parasites in human populations of northern Paraná region identified by using different parasitological methods

Larissa Rodrigues Bosqui¹

Verônica Lopes Pereira²

Luiz Antonio Custódio³

Maria Cláudia Noronha Dutra de Menezes⁴

Valter Abou Murad⁵

Ricardo Sergio Almeida⁶

Wander Rogério Pavanelli⁷

Ivete Conchon-Costa⁴

Julia Maria Costa-Cruz⁷

Idessania Nazareth Costa⁴

Resumo

Objetivo: O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência de *Strongyloides stercoralis* e outros parasitas intestinais em populações humanas na cidade de Londrina, Paraná, Brasil, utilizando quatro diferentes métodos parasitológicos. **Métodos:** Amostras de fezes frescas foram coletadas de voluntários (abril 2013 a maio de 2014) e processadas usando os métodos de Hoffman, Pons e Janer, Faust, Kato-Katz e método de Rugai. A análise estatística foi realizada no SPSS usando teste do qui-quadrado. **Resultados:** Um total de 2.315 amostras foi analisado, de indivíduos com idade de 0 a maiores de 80 anos. Parasitas foram detectados em 19,31% da população estudada. A região sul da cidade teve o maior número de casos, com 61,3% da população com infecção parasitária e com *odds ratio* (OR) de 2,4. Os métodos de Faust e Rugai foram os mais eficientes na detecção de parasitas. **S. stercoralis** mostrou prevalência de 5,3% pelo método de Rugai. **Conclusão:** Este estudo enfatiza a importância do uso de vários métodos parasitológicos para detecção precisa de parasitas, e destaca a necessidade de uma investigação epidemiológica atualizada para fornecer dados locais relevantes para a contribuição para os programas de controle e minimização dos riscos para a saúde da população.

Palavras-chave

Análise parasitológica; Parasitos; Estrongiloidíase

INTRODUÇÃO

As parasitoses intestinais acometem mais de 30% da população mundial e representam um grave problema de saúde pública no Brasil. Os altos índices de positividade estão relacionadas à falta de conhecimento e profilaxia associados à ausência do saneamento básico e nível socioeconômico, bem como o grau de escolaridade, a idade e os hábitos de higiene de cada indivíduo.^(1,2)

No Brasil, as enteroparasitoses ainda apresentam elevada prevalência. Entretanto, como em um mesmo país podemos encontrar áreas altamente desenvolvidas contrastando com áreas precárias, a prevalência e o espectro parasitário variam muito. Estima-se que 41,7 milhões de pessoas

estão infectadas com *Ascaris lumbricoides*, 18,9 milhões por *Trichuris trichiura* e 32,3 milhões por ancilostomídeos.^(3,4)

Dentre as geo-helmintíases, a estrongiloidíase, infecção causada pelo nematódeo *Strongyloides stercoralis*, está entre as seis primeiras, principalmente em regiões tropicais e subtropicais do mundo. Esta posição refere-se apenas às infecções ativas, uma vez que o número de pessoas potencialmente expostas com quadro de infecção subclínico é muito maior.⁽⁵⁾ *S. stercoralis* apresenta ciclo monoxênico, no qual a larva filarióide atravessa a pele, alcança os pulmões e migra até o trato gastrointestinal do hospedeiro. Em casos de hiperinfecção, a larva se prolifera rapidamente e atinge intestino e pulmões, enquanto que, em quadros graves de infecção disseminada, as larvas podem ser encontra-

¹Mestre - Departamento de Ciências Patológicas – CCB, Laboratório de Parasitologia Experimental, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.

²Graduando de Medicina - Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.

³Doutor. Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário de Londrina, Paraná, Brasil.

⁴Doutor (a) - Departamento de Ciências Patológicas – CCB, Laboratório de Parasitologia Experimental, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.

⁵Especialista - Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário de Londrina, Paraná, Brasil.

⁶Doutor. Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.

⁷Doutora - Laboratório de Diagnóstico de Parasitoses, Universidade Federal de Uberlândia, MG, Brasil.

Instituição: Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil

Suporte financeiro: O estudo foi suportado pela Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.

Artigo recebido em 17/08/2015

Artigo aprovado em 05/04/2016

das em diversos órgãos, como cérebro e rins. Enquanto a hiperinfecção pode acometer qualquer indivíduo, a forma disseminada é frequentemente vista em indivíduos imunocomprometidos, podendo por vezes, ser fatal.⁽²⁾

No período de 1990 a 2009, a ocorrência relatada da infecção por *S. stercoralis* no Brasil foi de aproximadamente 5,5% nas cinco regiões brasileiras, o que caracteriza o país como uma área hiperendêmica.⁽⁴⁾ No estado do Paraná, foi demonstrado que os índices desta parasitose variam de 0,9% a 3,3% na população em geral,^(6,7) no entanto, são necessários trabalhos que relatem estes dados, visto que eles são escassos, especificamente na região norte do Paraná.

O diagnóstico ideal para a detecção de *S. stercoralis* é baseado no hidrotropismo, entretanto estes não são empregados na rotina laboratorial. Diante disso, acredita-se que os dados de prevalência deste parasito ainda sejam subestimados e pouco elucidados.⁽⁸⁾ Esses fatores contribuem para o diagnóstico incorreto ou tardio, o que dificulta o tratamento adequado.

Diante da importância dos estudos de prevalência envolvendo enteroparasitos e, principalmente, *S. stercoralis*, pelo caráter grave que assume em muitas situações e considerando ainda a escassez de dados que relatem essa prevalência em determinadas áreas da região norte do Paraná, o objetivo do presente estudo foi analisar a ocorrência de parasitos no município de Londrina, a partir da análise de amostras coproparasitológicas da população, utilizando quatro diferentes métodos parasitológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, nº 1494.2013-56.

Londrina está situada no norte do estado do Paraná, região Sul do Brasil. Trata-se de um município com 537.566 habitantes, com aproximadamente 13.181 habitantes da zona rural, sendo que 41,76% da população total é composta por idosos. É a segunda cidade mais populosa do estado. Situada entre 23°08'47" e 23°55'46" latitude sul e longitude entre 50°52'23" e 51°19'11" oeste. O clima é classificado como subtropical úmido (temperatura média de 22°C), com chuvas o ano todo.⁽⁹⁾

Segundo dados do Censo (2010),⁽¹⁰⁾ dentre as regiões norte, sul, leste, oeste, centro e rural, a região sul de Londrina destaca-se como a maior área residencial, apresentando uma grande concentração de conjuntos habitacionais, seguida da região central, como a segunda região mais populosa da cidade.

Foram colhidas amostras fecais frescas de indivíduos provenientes das regiões sul, leste, centro e rural da cidade no período de abril de 2013 a maio de 2014 (após assinatura e consentimento do participante ou responsável).

As amostras fecais sem conservantes foram processadas no Laboratório de Extensão e Pesquisa de Enteroparasitoses (LEPE), do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Londrina, utilizando-se quatro métodos parasitológicos: Hoffmann, Pons & Janer,⁽¹¹⁾ Faust et al.,⁽¹²⁾ Kato e Miura,⁽¹³⁾ modificado por Katz et al.,⁽¹⁴⁾ e Rugai et al.⁽¹⁵⁾ Para cada amostra foram preparadas três lâminas para posterior leitura por, no mínimo, dois examinadores, em microscópio de luz (Olympus, CH-2, Japão) em aumentos de 40, 100 e 400x.

Após a leitura, os resultados dos exames foram encaminhados para as unidades básicas de saúde (UBS) responsáveis por cada bairro, para posterior encaminhamento ao profissional especializado para um tratamento, quando necessário.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada com auxílio do software SPSS versão 20.0. Os dados foram apresentados em frequência absoluta e relativa. Os testes aplicados para verificar a associação entre as variáveis foram: teste Qui-Quadrado, exato de Fisher e razão de verossimilhança. A partir das associações encontradas, um modelo de regressão logística foi estipulado. As variáveis: tempo em meses, região, gênero e faixa etária foram inseridas no modelo como preditoras, enquanto que a ocorrência de infecção, como desfecho; os resultados indicam a chance de ocorrência (*odds ratio*) de acordo com as características propostas e considerando um grupo de referência, apresentado como valor 1 nas tabelas. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

RESULTADOS

Em 2.315 amostras de fezes, de indivíduos de 0 a 99 anos, foram detectados parasitos em amostras de 19,31% (n=447) indivíduos, sendo que 50,3% (n=225) eram pertencentes ao gênero feminino e 49,7% (n=222) ao gênero masculino, com maior prevalência em crianças de 0-10 anos (4,4%) seguida de 11-20 anos (3,8%) como demonstrado na Tabela 1.

Foi observado que a região com maior concentração de casos positivos para enteroparasitos foi a região sul, com 61,3% ($p < 0,003$) (Figura A), dado este, significativamente diferente das demais regiões, além de apresentar razão de chances (OR) 2,4 vezes maior que a região central.

A Tabela 2 demonstra o número de parasitos detectados (n=532), sendo que muitos dos indivíduos apresentaram quadro de poliparasitismo. Dentre os protozoários, os que apresentaram maior ocorrência em relação aos demais enteroparasitos encontrados nas regiões analisadas foram: *Entamoeba coli* – 36,8% (n=196), *Endolimax nana* – 141

Tabela 1 - Distribuição do número de casos, prevalência e razão de chances de enteroparasitos por regiões, genero e faixa etária de indivíduos provenientes de Londrina, PR, no período de abril de 2013 a maio de 2014

	n	% Casos	Prevalência	OR (IC 95%)	P
Centro	36	(8,1%)	1,6%	1	
Sul	274	(61,3%)	11,8%	2,4 (1,3-4,4)	0,003
Rural	74	(16,6%)	3,2%	0,6 (0,3-1,2)	0,186
Leste	63	(14,1%)	2,7%	1,7 (1,0-2,8)	0,027
Feminino	225	(50,3%)	9,7%	1	
Masculino	222	(49,7%)	9,6%	1,0 (0,8-1,3)	0,461
>80	3	(0,7%)	0,1%	1	
0-10	101	(22,6%)	4,4%	2,158 (0,6-7,3)	0,221
11-20	89	(19,9%)	3,8%	2,293 (0,6-7,8)	0,188
21-30	58	(13,0%)	2,5%	1,843 (0,5-6,3)	0,335
31-40	39	(8,7%)	1,7%	1,329 (0,3-4,6)	0,657
51-50	55	(12,3%)	2,4%	1,622 (0,4-5,6)	0,446
51-60	35	(7,8%)	1,5%	1,097 (0,3-3,8)	0,886
60-70	43	(9,6%)	1,9%	1,879 (0,5-6,5)	0,324
71-80	24	(5,4%)	1,0%	2,519 (0,6-9,2)	0,162

*P<0.05.

(26,5%) (P <0,05). Para os helmintos: *S. stercoralis* – 5,3% (n=28) e ancilostomídeos – 3,8% (n=20) seguido de *Ascaris lumbricoides* – 3,4% (n=18). Porém, apresentam significância estatística, de acordo com a população distribuída nas regiões estudadas, os parasitos *A. lumbricoides* e *Enterobius vermiculares* – 13 (2,4%) (P <0,05). Os bairros pertencentes à região sul se destacaram por apresentarem o maior número de parasitos detectados, com um total de 328 (61,7%).

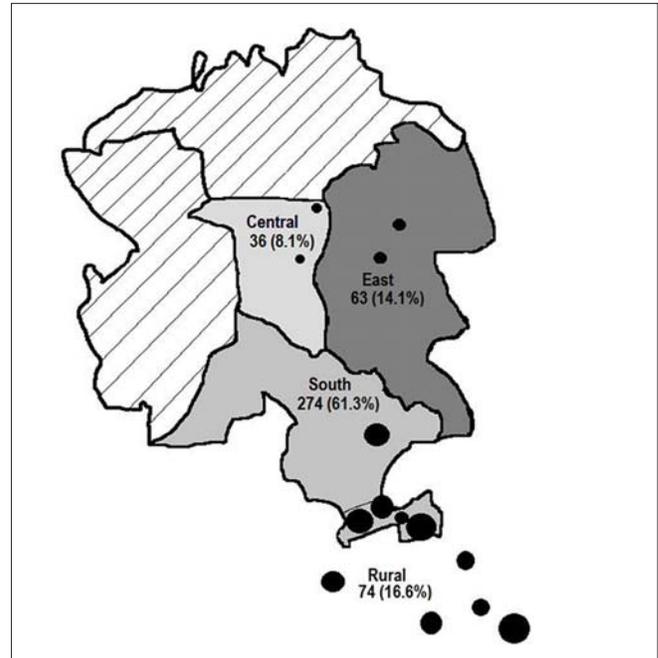


Figura A. Mapa da área estudada representada pelo número e percentual de casos por região, de abril 2013 a maio de 2014, em Londrina, PR.

Segundo a análise comparativa entre os testes parasitológicos aplicados, o método de Faust apresentou o maior número de detecção – 70,2 (n=394), tanto para o diagnóstico de protozoários quanto de helmintos. Foram observados 20,9% (n=117) de positividade utilizando o método de Rugai, principalmente na detecção de larvas de *S. stercoralis*. Estes dois métodos também apresentaram concordâncias com a detecção dos parasitos, como na identificação de *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* (Tabela 3).

Tabela 2 - Distribuição de enteroparasitos por regiões no período de abril de 2013 a maio de 2014, Londrina, Paraná

	Central	Leste	Sul	Rural	Total
	n(%)**	n(%)**	n(%)**	n(%)**	n(%)#
Protozoários					
<i>Entamoeba coli</i>	15 (7,7)	25 (12,8)	131 (66,8)	25 (12,8)	196(36,8)*
<i>Endolimax nana</i>	07 (5,0)	26 (18,4)	70 (49,6)	38 (27,0)	141(26,5)*
<i>Giardia lamblia</i>	05 (6,7)	08 (10,7)	53 (70,7)	09 (12,0)	75(14,1)
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	00 (0,0)	01 (6,7)	12 (80,0)	02 (13,3)	15(2,8)
<i>Iodamoeba butschilli</i>	00 (0,0)	02 (66,7)	01 (33,3)	00 (0,0)	03(0,6)*
Helmintos					
<i>Strongyloides stercoralis</i>	07 (22,6)	03 (9,7)	13 (51,6)	05 (16,1)	28(5,3)
Ancilostomídeos	02 (10,0)	01 (5,0)	12 (60,0)	05 (25,0)	20(3,8)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	02 (11,1)	00 (0,0)	16 (88,9)	00 (0,0)	18(3,4)*
<i>Enterobius vermiculares</i>	04 (30,8)	03 (23,1)	05 (38,5)	01 (7,7)	13 (2,4)*
<i>Hymenolepis nana</i>	00 (0,0)	01 (14,3)	05 (71,4)	01 (14,3)	07 (1,3)
<i>Fasciola hepatica</i>	01 (100,0)	00 (0,0)	00 (0,0)	00 (0,0)	01(0,2)
<i>Trichuris trichiura</i>	00 (0,0)	01 (12,5)	07 (87,5)	00 (0,0)	08(1,5)
<i>Schistosoma mansoni</i>	00 (0,0)	02 (28,6)	03 (42,9)	02 (28,6)	07(1,3)
TOTAL	43	73	328	88	532

**n (% casos do parasito); *P<0,05; #n (% do total de parasitos 532)

Tabela 3 - Distribuição do número de parasitos detectados utilizando diferentes métodos no período de abril de 2013 a maio de 2014, em indivíduos da região periférica de Londrina, Paraná.

	Faust*	Hofman*	Kato*	Rugai*	Parasitos detectados
Protozoários					
<i>Entamoeba coli</i>	169 (51,5)	12 (32,4)	0 (0,0)	25 (27,2)	196 (36,8)
<i>Endolimax nana</i>	96 (29,3)	5 (13,5)	0 (0,0)	46 (50,0)	141 (26,5)
<i>Giardia lamblia</i>	69 (21,0)	3 (8,1)	0 (0,0)	9 (9,8)	75 (14,1)
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	12 (3,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (3,3)	15 (2,8)
<i>Iodamoeba butschilli</i>	3 (0,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	03 (0,6)
Helmintos					
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1 (0,3)	5 (13,5)	0 (0,0)	27(29,3)	28 (5,3)
<i>Ancilostomídeos</i>	5 (1,5)	12 (32,4)	1 (14,3)	3 (3,3)	20 (3,8)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	16 (4,9)	1 (2,7)	0 (0,0)	1 (1,1)	18 (3,4)
<i>Enterobius vermiculares</i>	7 (2,1)	4 (10,8)	0 (0,0)	2 (2,2)	13 (2,4)
<i>Hymenolepis nana</i>	8 (2,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	07 (1,3)
<i>Fasciola hepática</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,1)	01 (0,2)
<i>Trichuris trichiura</i>	8 (2,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	08 (1,5)
<i>Schistosoma mansoni</i>	0 (0,0)	1 (2,7)	6 (85,7)	0 (0,0)	07 (1,3)
Total de casos (infecção + coinfeção)	394	43	7	117	Ñ
Parasitos detectados	328	37	07	92	Ñ

*n (% sujeitos detectados por método)

DISCUSSÃO

Considerando as parasitoses intestinais como um problema de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento, múltiplos fatores podem colaborar para a sua prevalência, tendo como questão chave as condições de saneamento básico.⁽¹⁶⁾ De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, a positividade de indivíduos parasitados foi de 19,31%, índice bastante elevado quando se compara o período da análise em questão. Nossos resultados estão de acordo com El Fatni et al.,⁽¹⁷⁾ quando se observam os índices de prevalência de enteroparasitos no Brasil, tanto nas áreas rurais quanto nas urbanas.

Vários fatores contribuem para os índices de positividade e disseminação de parasitos. Animais domésticos são importante veículo de contaminação, principalmente em crianças, já que geralmente estão mais expostas.⁽¹⁸⁾ Além disso, apesar das ações de saneamento terem avançado nas últimas quatro décadas, ainda persistem em determinadas regiões do Brasil os agravos à saúde pertinentes à insalubridade do meio ambiente, especialmente os de veiculação hídrica. Alguns autores acreditam que o saneamento básico aliado à educação são os principais meios de minimizar os riscos de contaminação dos parasitos.⁽¹⁶⁾

Dados da Companhia de Habitação de Londrina (COHAB-LD) mostram que existem 23 ocupações irregulares espalhadas pela cidade, localizadas na maioria dos casos em regiões de fundos de vale nas áreas de preservação permanente.⁽¹⁹⁾ No presente estudo, das regiões estu-

dadas, foi possível notar que a região sul de Londrina, Paraná, destacou-se quanto ao número de indivíduos parasitados – 61,3% (P < 0,003). A região sul possui 16 aglomerados, com a concentração de 1.450 famílias, representando 25,36% do total de famílias do município. Trata-se de uma região com um grande número de valetas de esgoto a céu aberto, acúmulo de lixo nos terrenos e córrego, sinais de odores e gases.⁽²⁰⁾

Desse modo, o número elevado de indivíduos parasitados encontrados nos bairros da região sul pode ser explicado pela deficiência ou mesmo inexistência de rede de coleta e tratamento de resíduos.⁽¹⁹⁾ Segundo Aguiar-Santos et al.,⁽²¹⁾ a falta de saneamento ambiental é um dos principais fatores relacionados às doenças humanas no mundo, principalmente as de veiculação hídrica.⁽¹⁶⁾ Por outro lado, a erradicação de parasitos requer melhorias principalmente nas condições socioeconômicas e nas mudanças de hábitos.⁽²²⁾

Outro fator importante que está intimamente relacionado ao elevado índice de parasitoses é a falta de instrução da população.^(21,22) Segundo a Secretaria Municipal de Assistência Social/Instituto de Pesquisa e Planejamento Urbano de Londrina – IPPULA (2008), a região sul apresenta alto índice de analfabetismo (12% a 17%). Acredita-se que a educação seja o principal fator para minimizar os graves problemas de saúde pública, pois o grau de instrução contribui no entendimento do processo de educação e saúde, especialmente nas medidas preventivas quanto às formas de transmissão parasitária.⁽²³⁾

Neste trabalho, a ocorrência de enteroparasitos foi semelhante para ambos os gêneros, não demonstrando, portanto, diferença entre eles. Apesar dos resultados não apontarem hipóteses que possam justificar maior frequência entre os gêneros, vale ressaltar que os cuidados adotados por homens e mulheres são diferenciados, sendo as mulheres as que mais procuram os serviços de saúde para a realização de exames de rotina.⁽²⁴⁾

Quanto à ocorrência de helmintos e protozoários em relação à faixa etária, foi observado, mesmo sem diferença significativa, que o grupo de crianças de 0-10 anos de idade apresentou o maior número de casos, representado por 101 (22,6%) e com razão de chance 2,158 vezes maior que os idosos acima de 80 anos. As crianças e os adolescentes são os grupos mais vulneráveis ao contato com enteroparasitos,⁽²⁵⁾ estando mais expostos à contaminação em função do pouco ou nenhum conhecimento dos princípios básicos de higiene pessoal e do maior contato com o solo e com animais.⁽²²⁾

Entre os protozoários que são capazes de causar infecção grave, principalmente em crianças, destacou-se, neste trabalho, *Giardia lamblia*, com frequência de 14,1%. Dados similares foram observados pela análise de 9.924 laudos no município de Rolândia (janeiro 2010-abril 2014) e de 5.419 no município de Ibiporã (janeiro 2010-dezembro 2013) no estado do Paraná, onde a ocorrência de *G. lamblia* foi de 12,06% e de 24,48% respectivamente.⁽²⁶⁾ Fato preocupante, já que as enteroparasitoses, principalmente em escolares, são capazes de comprometer a produtividade, a capacidade física e mental, além de exercerem efeitos patológicos de forma direta sobre a saúde, agravando o estado nutricional do hospedeiro.^(23,27)

Nossos resultados demonstram uma maior detecção de protozoários (80,8%) em relação aos helmintos (19,2%). Este alto índice de protozoários pode ser multifatorial, podendo ser um bioindicador de contaminação fecal-oral e de condições sanitárias, visto que a água de consumo é o maior destaque para tal infecção.⁽²⁷⁾

Com relação à frequência de infecções por geohelmintos, sabe-se que é influenciada por variáveis de natureza ambiental, podendo ser adquiridas por alimentos cultivados em solos contaminados, ausência de água de boa qualidade e de fossas, dejetos e detritos a céu aberto, solo úmido, altas temperaturas e até mesmo por meio dos animais domésticos.⁽²⁸⁾ Entre os helmintos encontrados, a maior prevalência, 28 (5,27%), foi observada para *S. stercoralis*. A estrogiloidíase no homem ocorre principalmente pela penetração ativa das larvas filarioides na pele íntegra, ou, ocasionalmente, através das mucosas, quando são deglutidas acidentalmente através de alimentos contaminados.⁽²⁹⁾ A elevada prevalência da estrogiloidíase em regiões tropicais e subtropicais facilita a transmissão e o caráter de cronicidade, o que pode originar formas graves

de infecções, sobretudo em indivíduos imunocomprometidos.⁽⁴⁾

No município de Ibiporã, estudo retrospectivo (janeiro de 2010 a dezembro de 2013) realizado pela nossa equipe demonstrou a ocorrência de 103 (9%) casos positivos para *S. stercoralis*, demonstrando a importância da estrogiloidíase na região norte do Paraná.⁽²⁶⁾ Já na cidade de Londrina, a análise retrospectiva de 11.641 laudos realizada pela mesma equipe, em quatro anos (2009-2012), apontou apenas cinco (0,2%) casos de estrogiloidíase. Cabe enfatizar que o método utilizado na rotina laboratorial para esta detecção não era baseado no hidrotropismo das larvas (dados não mostrados). Diferentemente, no presente trabalho a ocorrência de *S. stercoralis* foi de 28 casos em um ano, realçando a importância da utilização de métodos específicos para o diagnóstico desta helmintíase. Esses casos foram detectados principalmente na região sul, como citado anteriormente, que é uma região com condições precárias de moradias. Apesar de *S. stercoralis* ser um geo-helminto, o número de casos detectados nas áreas rurais foi menor, o que pode ser justificado pelo avanço nas melhorias habitacionais de infraestrutura, refletindo, conseqüentemente, nas práticas de higiene pessoal e doméstica. A diminuição do número de infecções por helmintos pode ser possivelmente compreendida pelo uso indiscriminado de drogas anti-helmínticas por parte da população em geral, que por vezes se automedicam.

Devido aos inúmeros métodos propostos para o exame parasitológico, é preciso que se conheçam as limitações, complexidade da técnica e baixa sensibilidade para o diagnóstico de determinados parasitos,⁽²⁹⁾ o que é justificado por De Carli,⁽³⁰⁾ pois em laboratórios de rotina é necessário empregar mais de um método de diagnóstico para detectar as formas parasitárias de protozoários e helmintos, principalmente quando há baixa carga parasitária.

Nos últimos anos, para trabalhos coprológicos realizados na cidade de Londrina foram empregados, além do método de Hofmann, Pons e Janer, outros métodos como Kato-Katz e Faust. Kato-Katz é muito utilizado nos Programas de Controle da Esquistossomose para detecção de *Schistosoma mansoni*, porém não é indicado para a detecção de larvas de helmintos e protozoários intestinais.⁽³⁰⁾ Faust é indicado para cistos de protozoários e ovos de ancilostomídeos.⁽²⁸⁾ Este método mostrou-se bastante sensível neste estudo, sendo responsável pelo maior número de detecção de parasitos no geral – 70,2% (n=394). Já o método de Hoffman-Pons-Janer é a técnica mais utilizada em laboratórios de análises clínicas, onde sua utilização é justificada por abranger o diagnóstico de protozoários e helmintos, além de apresentar baixo custo.⁽²⁹⁾

Sabendo que a estrogiloidíase humana é uma infecção de condição negligenciada, sendo relatada com

diferentes prevalências no Brasil, nós propusemos, para este trabalho, além das técnicas já citadas acima, a realização de uma quarta, a técnica de Rugai, especialmente para averiguar os casos positivos para *S. stercoralis*. Como citado anteriormente, e em concordância com a literatura, o método de Rugai apresentou maior sensibilidade para a detecção da larva deste parasito. Esta informação é de relevante importância pelo fato de evitar resultados falso negativos para o helminto quando se utilizam apenas técnicas ditas padrão na rotina. É fato que a utilização de água aquecida permite a captura de larvas devido ao termotropismo e hidrotropismo positivos; além disso, esse método possui baixo custo quando comparado a outros, podendo ser perfeitamente viável na rotina laboratorial.

É preciso destacar também que, em nossa pesquisa, houve detecção de 78 casos de coinfeção, sendo que 66 indivíduos estavam biparasitados e mais de dez poliparasitados (dados não mostrados), o que frequentemente é relatado por outros autores, onde a ocorrência de indivíduos poliparasitados, em estudos epidemiológicos, é comum, devido à disseminação desses parasitos e pela facilidade com que são transmitidos.^(23,29)

Por fim, diante dos resultados apresentados, *S. stercoralis* foi o mais detectado dentre os helmintos, pelo método de Rugai, na cidade de Londrina, Paraná. Com isso, ressalta-se a importância da utilização de diferentes métodos para que ocorra o diagnóstico mais preciso e, conseqüentemente, o tratamento adequado dos infectados. Além disso, dados de ocorrência de enteroparasitos são importantes para a avaliação da saúde pública de uma região, fornecendo subsídio para a implementação de programas de controle e, conseqüentemente, minimizar os danos que estes podem gerar à população.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Extensão e Pesquisas em Enteroparasitoses (LEPE), do Ambulatório do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Londrina.

Abstract

Objective: The goal of this study was to determine the prevalence of *Strongyloides stercoralis* and other intestinal parasites in human populations in the city of Londrina, Paraná, Brazil, using four different parasitological methods. **Methods:** Fresh fecal samples were collected from volunteers (April 2013 to May 2014) and processed using the Hoffman, Pons and Janer, Faust, Kato-Katz and Rugai methods. Statistical analysis was performed in SPSS using a Chi-square test. **Results:** A total of 2,315 samples were analyzed, from individuals aged from zero to more than 80 years. Parasites were detected in 19.31% of the population studied. The southern region of the city had the highest number of cases, with 61.3% of the population harboring parasitic infection and with an odds ratio (OR) of 2.4. The Faust and Rugai methods were the most efficient at detecting parasites. *S. stercoralis* showed 5.3% prevalence using Rugai method. **Conclusion:** This study emphasizes the importance of using various parasitological methods for accurate detection of parasites, and highlights the need for updated epidemiological

research to provide relevant local data for contribution to control programs and minimization of population health hazards.

Palavras-chave

Parasitological analysis; Parasites; Strongyloidiasis

REFERÊNCIAS

- Melo EM, Ferraz FN, Aleixo LD. Importância do estudo da prevalência de parasitos intestinais de crianças em idade escolar. SaBios: Rev. Saúde Biol. 2010;5(1): 43-7.
- Brum JWA, Conceição AS, Gonçalves FVC, et al. Parasitoses oportunistas em pacientes com o vírus da imunodeficiência humana. Rev Bras Clin Med. 2013;11(3): 280-88.
- Mascarini-Serra LM1, Telles CA, Prado MS, Mattos SA, Strina A, Alcantara-Neves NM, et al. Reductions in the prevalence and incidence of geohelminth infections following a city-wide sanitation program in a Brazilian Urban Centre. PLoS Negl Trop Dis. 2010 Feb 2;4(2):e588.
- Paula FM, Costa-Cruz JM. Epidemiological aspects of strongyloidiasis in Brazil. Parasitology. 2011 Sep;138(11):1331-40.
- Luvira V, Watthanakulpanich D, Pittisuttithum P. Management of *Strongyloides stercoralis*: a puzzling parasite. Int Health. 2014;6(4): 273-81.
- Falavigna DLM, Almeida AA, Iwazaki RS, et al. Intestinal parasites in ecotourism region of the state of Paraná, Brazil. Braz Arch Biol Technol. 2008;51(4):693-99.
- Toledo MJO, Paludetto AW, Moura FT, Nascimento ES, Chaves M, Araújo SM, et al. Avaliação de atividades de controle para enteroparasitoses em aldeia Kaingang do Paraná. Rev Saúde Pública. 2009;43(6):981-90.
- Olsen A, van Lieshout L, Marti H, Polderman T, Polman K, Steinmann P, et al. Strongyloidiasis - the most neglected of the neglected tropical diseases? Trans R Soc Trop Med Hyg. 2009 Oct;103(10): 967-72.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE Cidades. Dados do município de Londrina-PR - Censo 2013. Available in: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=411370>.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE Cidades. Dados do município de Londrina-PR - Censo 2010. Available in: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=411370>.
- Hoffmann WA, Pons JA, Janer JL. The sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. Puerto Rico J Publ Health Trop Med. 1934;9:283-98.
- Faust EC, Sawitz W, Tobie J. Comparative efficiency of various techniques for diagnosis of protozoa and helminthes in feces. J Parasit. 1939;25:241-62.
- Kato K, Miura M. Comparative examinations. Jap J Parasit. 1954;3:35.
- Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1972;14(6):397-400.
- Rugai E, Mattos T, Brisola AP. Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes: modificações do método de Baermann. Rev Inst Adolfo Lutz. 1954;14:5-8.
- David TG, Macedo CL, De Sá FMP, et al. Prevalence of the enteroparasites in the municipality of Ariquemes, Rondônia, Brazil. Rev Cien Facul Edu Meio Amb 2013;4(2):39-48.
- El Fatni C, Olmo F, El Fatni H, Romero D, Rosales MJ. First genotyping of *Giardia duodenalis* and prevalence of enteroparasites in children from Tetouan (Morocco). Parasite. 2014;21:48-54.
- Rocha TJ, Braz JC, Calheiros CML. Parasitismo intestinal em uma comunidade carente do município de barra de Santo Antônio, estado de Alagoas. Rev Elet Farmácia. 2010(3);2: 28-33.
- Ribeiro WS, Melchior L. Estruturação Urbana sob o Contexto da Mobilidade Populacional em Londrina-Brasil. Rev Bib Geo Ciên Soc. 2002;7(341).

20. Barros MVF, Scomparim A, Kishi CS, Caviglione JH, Arantes MR, Nakashima SY, et al. Identificação das ocupações irregulares nos fundos de vale da cidade de Londrina-PR por meio de imagem landsat 7. *Ra'e Ga* 7: 2003; 1(7): 47-54. Disponível em: <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/raega/article/viewFile/3350/2686>>.
21. Aguiar-Santos AM, Medeiros Z, Bonfim C, et al. Epidemiological assessment of neglected diseases in children: lymphatic filariasis and soil transmitted helminthiasis. *Rev J Ped*. 2013;89(3): 250-55.
22. Menezes RAO, Gomes MSM, Barbosa, FHF, et al. Parasitas intestinais na população residente em áreas úmidas em Macapá, Amapá, Brasil. *Rev Biol CiêncTerra*. 2013;13(2): 10-8.
23. Andrade EC, Leite ICG, Rodrigues VO, et al. Parasitoses intestinais: uma revisão sobre seus aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. *Rev APS*. 2010;13(2):231-40.
24. Brunton LL, Knollman BC, Chabner BA. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman*. Artmed 2012; 12ed.
25. Oliveira VF, Amor ALM. Associação entre a ocorrência de parasitos intestinais e diferentes variáveis clínicas e epidemiológicas em moradores da comunidade Ribeira I, Araci, Bahia, Brasil. *Rev Bras Anal Clin*. 2012;44(1): 15-25.
26. Bosqui LR, Pereira VL, Lucas BB, et al. Ocorrência de *Strongyloides stercoralis* e demais enteroparasitos em indivíduos provenientes de municípios da região norte do Paraná. *Rev Biosáude*. 2014;16(1): 8-18.
27. Freitas BQ, Mesquita MJS, Neto NJP, et al. Levantamento dos principais parasitas presentes no município de Barra do Garças-MT. *Rev Eletr Interdisc: UNIVAR*. 2014;2(12):32-36.
28. Ferreira MU. *Parasitologia Contemporânea*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2012;1ed.
29. Carvalho GLX, Moreira LE, Pena JL, et al. A comparative study of the TF-Test®, Kato-Katz, Hoffman-Pons-Janer, Willis and Baermann-Moraes coprologic methods for the detection of human parasitosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012;107(1):80-4.
30. De Carli GA. *Diagnóstico laboratorial das parasitoses humanas, métodos e técnicas*. Medsi 2011;3ª ed: 455-59.

Correspondência

Larissa Rodrigues Bosqui

*Departamento de Ciências Patológicas – CCB,
Laboratório de Parasitologia Experimental*

Universidade Estadual de Londrina

*Rodovia Celso Garcia Cid Campus Universitário, Cx. Postal 6001
86051-990 – Londrina, PR, Brasil*

Análise da rentabilidade em laboratórios de análises clínicas

Analysis of profitability in clinical analysis laboratories

Daniel Rodrigues de Bastos¹

Paulo Roberto de Melo Reis² (orientador)

Resumo

Objetivo: Propor um método matemático para verificar o lucro estimado de exames laboratoriais, favorecendo uma gestão mais eficaz. **Métodos:** Estudo empírico descritivo e transversal com abordagem quantitativa. Foi realizado levantamento dos custos de um laboratório localizado em Goiânia, GO, utilizando fórmulas para análise da rentabilidade. **Resultados e Discussão:** Estas fórmulas fornecem resultados que podem ser utilizados por finalidades múltiplas. Aos gestores de laboratórios de análises clínicas: possibilita verificar se o valor cobrado em regime particular é suficiente para cobertura dos custos diretos e indiretos da produção; estimar o lucro do mesmo exame, caso adotado metodologia inferior ou superior, onde o gestor poderá fazer um paralelo e optar pelo mais conveniente; traçar novas metas e novos objetivos organizacionais. Ao Sistema Único de Saúde (SUS): retificar valores pagos a laboratórios privados; equipar laboratórios públicos com metodologias capazes de atender com eficiência os seus usuários e de forma econômica; planejar terceirização de serviço para exames que, de acordo com as fórmulas propostas, apresentarem custos altos ou que a terceirização em si apresente maior vantagem. Investidores e acionistas de laboratórios clínicos: opinar por projetos que visam alavancar os segmentos que apresentam maior vantagem competitiva e otimizar os demais. **Conclusão:** Após análise do perfil laboratorial e levantamento de estudos temáticos foi possível elaborar uma metodologia matemática para aferir a estimativa mais próxima possível do lucro real obtido pela realização de cada exame laboratorial.

Palavras-chave

Laboratórios; Rentabilidade; Gestão em Saúde

INTRODUÇÃO

As decisões tomadas pelos gestores administrativos são subsidiadas e auxiliadas pelos instrumentos da contabilidade, a qual é responsável por coletar dados econômicos e os mensurar de forma monetária, registrando e sumarizando em estrutura de relatório ou de comunicado.⁽¹⁾ O patrimônio organizacional é o objeto de estudo da contabilidade.

A Contabilidade gerencial pode ser entendida como um processo de identificação, mensuração, acumulação, análise, preparação, interpretação e comunicação de informação, podendo ser utilizada pela empresa para planejamento, avaliação, controle e auxílio na tomada de decisão.⁽²⁾

A visão organizacional em relação à contabilidade dos custos era vista como um mal necessário da qual se esperava somente atender as exigências contábil-fiscais. Não havia então necessidade de explorar a contabilidade como ferramenta de apoio gerencial.⁽³⁾ No entanto, devido ao processo de globalização e expansão das atividades empre-

sariais, a liderança em custos passou a ser uma importante estratégia que fornece vantagem competitiva. Fornecer um produto/serviço com as melhores qualidades e com o menor custo de produção possível se tornou o principal objetivo para as empresas que buscam a excelência empresarial a partir da aplicação contábil eficaz.⁽⁴⁾

Diversos fatores têm contribuído de forma significativa para alteração do ambiente operacional das empresas. Dentre eles incluem-se: mix de produtos mais variados, com menor proporção de volume, alterações na estrutura dos custos e despesas, redução no ciclo de vida dos produtos e menor poder empresarial na imposição de preços de mercado.⁽⁵⁾

A contabilidade de custos objetiva detalhar os custos e as despesas assim como a forma de atribuí-las a cada produto em sua particularidade. Juras et al.⁽⁶⁾ dizem que um sistema de custeio é um conjunto de dados interdependentes que podem interagir na consecução de um objetivo comum, coletando, processando e gerando informações derivadas do desempenho das operações.

¹Acadêmico de Biomedicina pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás – Goiânia, GO, Brasil.

Formando em Administração pela Universidade Católica Dom Bosco – UCDB – Campo Grande, Mato Grosso do Sul. Secretário do Comitê de Ética em Pesquisa da PUC Goiás – Goiânia, GO, Brasil.

²Docente do departamento de Biomedicina e Farmácia da PUC Goiás e dos Programas de mestrado em Ciências Ambientais e Saúde (MCAS e Mestrado em Genética (MGENE), Laboratório de Estudos Experimentais e Biotecnológicos - LEB, Área V, Campus I - PUC Goiás – Goiânia, GO, Brasil.

Instituição: Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiania, GO, Brasil.

Artigo recebido em 07/11/2014

Artigo aprovado em 01/02/2016

A avaliação de ativos, apuração dos resultados, controle de operações e análise da rentabilidade são itens que permitem subsídios para formação do preço de venda e para o próprio processo de planejamento da operação.⁽⁶⁾ Desta forma, o custeio pode ser visto como um instrumento gerencial de suporte aos gestores no processo de tomada de decisões.

Segundo Carvalho,⁽⁷⁾ o sistema contábil é um meio formal ou simplificado que reúne elementos para auxiliar e coordenar decisões coletivas de uma organização. Esse sistema é responsável por proporcionar informações com três finalidades, sendo as duas primeiras de uso interno da organização e a terceira voltada aos acionistas.

O processo de contabilidade dos custos tem aplicação a qualquer área empresarial, e dentre suas funções destacam-se ao contexto laboratorial: Assistência à tomada de decisão, controle dos custos, redução de custos e eliminação de desperdícios, comparação de processos de produção e dos seus custos, planejamento, cálculo do valor a ser cobrado ao cliente, avaliação de estoque e fragmentação dos custos.⁽⁸⁾

Dentro desse contexto da contabilidade e gestão de custos, os sistemas de saúde objetivam avanços em prol do benefício para a sociedade de forma a utilizar o mínimo de recurso com a máxima qualidade.⁽⁸⁾ A automação e o processo de informatização aplicada a laboratórios de análises clínicas são fatores que implicam a necessidade em obter maiores informações acerca dos custos envolvidos no processo produtivo, mais precisamente no custo de realização dos exames.⁽⁹⁾

Aferir o valor do custo real de um exame laboratorial é um estudo muito complexo devido às enormes variáveis decorrentes das atividades desenvolvidas, da estrutura laboral, do tipo e do grau de complexidade dos exames, do perfil do cliente atendido, dos níveis de automação, da qualidade no processo de prestação de serviço e do perfil profissional de cada colaborador.⁽¹⁰⁾

A carência de estudos sobre custos de exames laboratoriais tem prejudicado o processo de planejamento no quesito de redução dos custos colaborador⁽¹⁰⁾ uma vez que, para reduzir, é essencial conhecer os valores reais envolvidos no processo de produção do resultado de determinado analito.⁽¹¹⁾

O custo governamental para com a saúde social é notadamente crescente. Pensando neste item e ainda nas vantagens competitivas, a identificação do custo não é apenas parte desse processo, mas sim a essência. O conhecimento real do custo é de interesse privado e público, uma vez que infere diretamente no sistema de gestão pública e nas políticas de saúde.⁽¹⁰⁾ Portanto, este trabalho tem como objetivo propor um método matemático que visa verificar o lucro estimado de exames laboratoriais.

Laboratórios de análises clínicas são compostos por departamentos ou sessões, assim como qualquer outro tipo de organização. Cada qual com suas particularidades financeiras e de recursos humanos. O custo de produção, con-

forme estabelece Vasconcellos et al.,⁽¹²⁾ é subdividido em dois grupos a se considerar: custos fixos e custos variáveis. O primeiro identifica valores que independem do processo de produção e o segundo está diretamente relacionado à variação do volume e/ou processo de produção.

Silva et al.⁽¹³⁾ afirmam que o Lucro Real é o lucro líquido de determinado período, que deve ser apurado conforme as normas das legislações comercial e societária, sofrendo influências adicionais, excludentes ou de compensação. Este método tende a avaliar todo o contexto organizacional, envolvendo os custos, gastos, obrigações tributárias e demais particularidades dependentes do tipo e porte da empresarial. O Lucro Unitário é a diferença entre o preço de venda do produto/serviço menos a soma do custo de mão-de-obra e o custo dos insumos no processo de produção.

Diante da concorrência capitalista no atual cenário mercadológico, a precisão e exatidão proporcionam vantagem competitiva à organização.⁽¹²⁾ O balanço patrimonial e a Demonstração do Exercício do Resultado, embora muito utilizado por grande parte das empresas, traz informações limitadas. É preciso identificar e apurar qual o produto ou serviço que influencia o aumento do lucro e em qual proporção isso ocorre.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo empírico descritivo e transversal com abordagem quantitativa. Foi realizado levantamento dos custos de um determinado laboratório localizado em Goiânia, Goiás. Estes foram agrupados em categorias e posteriormente receberam uma sigla de identificação. O período de apuração, pagamento de impostos, custos fixos e variáveis, mão-de-obra e outros são calculados/estimados no período de tempo de um mês e cada laboratório deve adaptar o método matemático conforme sua realidade em termos de custos adicionais e da exploração da mão-de-obra utilizada.

Para o cálculo da rentabilidade as seguintes fórmulas são propostas:

Tabela 1 - Fórmula Geral e Específica

Fórmula Geral

$$E_{LE} = V_{RRE} - [(M_{CF} + C_{PE}) + (C_{MOD} + C_{MOI}) + X]$$

Fórmula Específica

Comodato

$$E_{LE} = V_{RRE} - [(M_{CF} + C_{PE}) + (C_{MOD} + C_{MOI}) + C_{AC}]$$

Equipamento Adquirido

$$E_{LE} = V_{RRE} - [(M_{CF} + C_{PE}) + (C_{MOD} + C_{MOI}) + C_{EA}]$$

Manual

$$E_{LE} = V_{RRE} - [(M_{CF} + C_{PE}) + (C_{MOD} + C_{MOI}) + C_{MU}]$$

Legenda: E_{LE} : Lucro Estimado por Exame; V_{RRE} : Valor Recebido pela Realização do Exame; M_{CF} : Média do Custo Fixo; C_{PE} : Custo por Exame; C_{MOD} : Custo da Mão-de-Obra Direta; C_{MOI} : Custo da Mão-de-Obra Indireta; C_{AC} : Custo da Automação-Comodato; C_{EA} : Custo com Equipamento Adquirido; C_{MU} : Custo do Material Utilizado.

Tabela 2 - Subfórmulas

1º Equação	2º Equação	3º Equação		
$M_{CF} = CF/TE$	$C_{MOD} = TPS2/TERS$	Comodato	Eq. Adquirido	Manual
$C_{PE} = V_K + R/QER$	$C_{MOI} = TPS1/TE$	$C_{AC} = AM/TERE$	$C_{EA} = CA + C_{MME} / E_{ER}$	$C_{MU} = S_{CM}$

Legenda: M_{CF} : Média do Custo Fixo; CF : Custo Fixo; TE : Total de Exames; C_{PE} : Custo por Exame; V_K : Valor do Kit; R : Reagentes; QER : Quantidade de Exames Realizados; C_{MOD} : Custo da Mão-de-Obra Direta; $TPS2$: Total de Salários Pagos - Profissionais Produção; $TERS$: Total de Exames Realizados na Seção; $TPS1$: Total de Salários Pagos - Profissionais Não-Produção; C_{MOI} : Custo da Mão-de-Obra Indireta; C_{AC} : Custo da Automação-Comodato; AM : aluguel Mensal; $TERE$: Total de Exames Realizados no Equipamento; C_{EA} : Custo com Equipamento Adquirido; CA : Custo do Aparelho; C_{MME} : Custo de Manutenção Mensal e Encargos; E_{ER} : Estimativa de Realização de Exame; C_{MU} : Custo do Material Utilizado; S_{CM} : Custo do Material utilizado

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estas fórmulas fornecem resultados que podem ser utilizados por finalidades múltiplas:

Gestores de laboratórios de análises clínicas: possibilita verificar se o valor cobrado em regime particular é suficiente para cobertura dos custos diretos e indiretos da produção; permite estimar o lucro do mesmo exame, caso adotado metodologia inferior ou superior, onde o gestor poderá fazer um paralelo e optar pelo mais conveniente; traçar novas metas e novos objetivos organizacionais.

Sistema Único de Saúde (SUS): retificar valores pagos a laboratórios privados; equipar laboratórios públicos com metodologias capazes de atender com eficiência os seus usuários e de forma econômica; planejar terceirização de serviço para exames que de acordo com a fórmula apresentarem custos altos ou que a terceirização em si apresente maior vantagem.

Investidores e acionistas de laboratórios clínicos: opinar por projetos que visem alavancar os segmentos que apresentam maior vantagem competitiva e otimizar os demais.

A base da proposta da metodologia tem início a partir do valor cobrado ao cliente pela realização de determinado exame, o qual independe de convênio. Será a partir deste valor que os custos de produção e de mão-de-obra deverão ser extraídos em prol da obtenção da Estimativa do Lucro por Exame (E_{LE}). Quanto extrair do valor inicial e como chegar a um consenso de valor extraído sem prejuízo do valor total apurado no lucro estimado é a proposta para elaboração do método matemático neste artigo.

O Valor Recebido pela Realização do Exame (V_{RRE}) é o ponto de partida, será este valor que proporcionalmente contribuirá com impostos, mão-de-obra e demais custos envolvidos direta ou indiretamente em sua produção. O V_{RRE} está disponível na tabela do Sistema Único de Saúde, em planos de saúde ou ainda de acordo com a política de cobrança em regime particular.

Devido à complexidade dos custos envolvidos no processo de produção em um laboratório de análises clínicas, realizou-se uma divisão em três equações, que serão trabalhadas cada qual com sua particularidade. A primeira equação contempla os custos fixos e variáveis. A segunda

equação é voltada ao custo de colaboradores que estão envolvidos direta ou indiretamente com o processo de produção. E a terceira equação diz respeito ao custo de equipamentos utilizados para viabilizar a análise do material biológico ou metodologia adotada.

Primeira equação

A primeira equação traz informações relacionadas a custos fixos e custos variáveis. Dois valores deverão ser identificados.

O Custo fixo, conforme mencionado, é aquele que, em curto prazo, não sofre influência da produção. Será todo desembolso mensal realizado pela organização, podendo incluir: aluguel do estabelecimento comercial, pacote de internet, salário de colaboradores, segurança, energia, água, telefone e outros que poderão estar relacionados à estrutura física, financeira e porte da organização. Para divisão ideal de valores, o custo fixo foi fragmentado em três momentos diferentes: o primeiro denominado apenas de Custo Fixo (CF), abordado na primeira equação; o segundo, Custo Mão-de-obra Direta (C_{MOD}) e o terceiro de Custo Mão-de-obra Indireta (C_{MOI}), contemplados na segunda equação. O salário de colaboradores é então extraído do primeiro grupo (CF), será enquadrado a um dos outros dois restantes, e pertencerá à segunda equação - ser será explicitado posteriormente.

Sabendo da composição dos valores que inferem o Custo Fixo (CF), tem-se um dado importante para elucidação da estimativa do lucro. O CF deverá ser pago pelos exames realizados no laboratório e que correspondem à receita gerada. No entanto, o objetivo deste é mais minucioso, pois se pretende verificar a estimativa do lucro unidade de produto. Para tanto, estabeleceu-se uma Média de Custo Fixo (M_{CF}), que independe do grau de complexidade do exame ou o valor por ele cobrado. Cada exame atribui sua coparticipação com os custos para manter o estabelecimento. O CF deverá ser dividido pelo Total de Exames (TE) realizados no período de um mês - em mesma proporção que os salários e encargos tributários que apresentam vencimento neste mesmo período - o resultado será a MCF. Ao TE deverão ser inclusos todos os exames internos incluindo serviços terceirizados.

Exames laboratoriais são reações viabilizadas por reagentes químicos e kits comerciais. Deverá ser somado à MCF o Custo Por Exame (C_{PE}). Três variáveis devem ser analisadas para elucidação do C_{PE} : Valor do Kit (V_K) utilizado para dosagem do analito (exame) em estudo; a soma do valor de outros Reagentes (R), quando aplicável; e a Quantidade de Exames Realizados (QER) considerar branco da amostra, controle interno/externo, pois interferem significativamente no aumento do custo - Estes são exigências legais para garantia do controle de qualidade que visam preservar a exatidão e precisão na liberação do resultado final, mas que, no entanto, geram custo.

Segunda Equação

A mão-de-obra pode ser caracterizada como direta e indireta. A mão-de-obra direta (MOD) é relativa ao recurso humano que trabalha diretamente sobre o produto/serviço em elaboração, e a mão-de-obra indireta (MOI) compreende os gastos com pessoal que trabalha na organização sem interferir diretamente na elaboração do produto/serviço.

A segunda equação tende a contemplar os custos de mão-de-obra. Em primeiro momento foi separado a MOD da MOI. Para elucidação da MOI devem ser somados os custos que envolvem todos os profissionais que se enquadram nesta condição, e neste contexto laboratorial serão encontrados na fase pré-analítica e/ou pós-analítica; estes, por sua vez, não interferem diretamente no processo de análise do material biológico, mas de forma genérica. São eles: recepcionistas, digitadores, serviço de limpeza, flebotomistas, motorista, profissional responsável por lavagem e esterilização dos materiais laboratoriais, e outros que serão dependentes da realidade de cada laboratório. Os profissionais que exercem MOD serão biomédicos, bioquímicos, técnicos, anatomopatologistas, etc.

Determinadas instituições poderão deparar-se com dificuldade na separação do colaborador em MOD ou MOI devido ao acúmulo de função. Para tanto, o caso deverá ser analisado de forma isolada. O profissional comumente encontrado nos dois tipos de mão-de-obra é o flebotomista, e quando sua única função for a coleta de material biológico, o salário e os encargos deverão corresponder de forma integral para efetuar o cálculo (MOD); no entanto, se este mesmo profissional for responsável ainda pela realização de exames laboratoriais, como é a realidade de diversos locais, deve-se extrair a carga horária deste profissional na coleta de material biológico (MOD), e sua carga horária na sessão específica (MOI).

Independente da classificação em MOD ou MOI, é necessário frisar que o salário de cada colaborador só é viável devido ao valor cobrado pelo serviço ao cliente, caso contrário não existe lucro. O total de exames realizados é então o que viabilizará este pagamento. Como o foco é verificar o lucro em um único exame é preciso saber qual a

participação de cada profissional direta ou indiretamente na realização do serviço.

O Custo de Mão-de-obra Indireta (C_{MOI}) será o Total de Salário Pago aos colaboradores que não estão envolvidos diretamente no processo de produção (TSP1) dividido pelo quantitativo geral de exames ou Total de Exames (TE) realizados durante o período de análise (um mês). O Custo de Mão-de-obra Direta (C_{MOD}) será o Total de Salário Pago aos profissionais específicos que estão diretamente envolvidos com o processo de produção (TSP2) dividido pelo Total de Exames Realizados na Sessão (TERS). Deve-se ter extrema atenção, pois o quantitativo de exames indicados em TERS está vinculado ao VRE e à respectiva sessão onde será analisado.

Terceira Equação (X)

A terceira equação poderá sofrer alteração de acordo com a análise realizada, pois está diretamente ligada à metodologia que se utiliza para realização do exame. Desta forma, haverá uma interpretação para metodologias manuais e outra para metodologias com automação. Será chamada de "X" na fórmula geral, e deve ser substituído de acordo com a metodologia de escolha.

Automação

Quando a metodologia de base para realização do exame ou dosagem do analito for automação deve-se ainda verificar a condição - se por comodato ou se por compra do equipamento.

Comodato

Se comodato, é necessário especificar o valor do Aluguel Mensal (A_M) dividido pelo TERE (Total de Exames Realizados no Equipamento) no período de análise que corresponderá ao Custo de Automação Comodato (C_{AC}).

Equipamento Adquirido

Por outro lado, se a empresa opta pela compra do equipamento, outro critério será adotado. Haverá então especificação do Custo do Aparelho (C_A) acrescido de Custo de Manutenção Mensal e Encargos (C_{MME}) divididos pela Estimativa de Realização de Exames (E_{RE}) que levará ao resultado do Custo com Equipamento Adquirido (C_{EA}).

Manual

Os métodos manuais são aqueles realizados sem equipamentos automáticos. Nesta metodologia será observado o Custo de Material Utilizado (C_{MU}), que englobam vidrarias, pipetas, ponteiras, dentre outros, e mesmo que descartáveis ou não. Quando utilizar material descartável considerar o custo unitário, ou materiais esterilizáveis apresentar média do custo. Em geral, o C_{MU} será a Soma dos Custos de Materiais Utilizados (S_{CMU}).

Exemplificando:

Pretende-se verificar a estimativa de lucro em cada hemograma realizado com base na tabela de valores do Sistema Único de Saúde, atualizado em R\$ 4,11. O laboratório X realizou 50.000 exames no mês de agosto de 2014. Apresentou custo fixo de R\$ 30.000,00, desta forma o M_{CF} foi de R\$ 0,60. Os salários e impostos dos colaboradores envolvidos na mão-de-obra direta foram calculados a partir do C_{MOD} e obteve-se o valor de R\$ 0,18. De igual forma, ao C_{MOD} é realizado o cálculo do C_{MOI} com a diferença de que, neste, é somado o salário e imposto pago ao profissional que está envolvido de forma direta na realização do exame, tendo sido utilizado, como base, o piso estabelecido pelo CRBM 3º região, atualizado em R\$ 1.800,00. Foram realizados 25 mil hemogramas no período analisado. Desta forma, tem-se que C_{MOI} é igual a R\$ 0,081. O equipamento encontra-se em comodato no valor mensal de R\$ 1.600,00 livre de impostos e taxas de manutenção, portanto o C_{AC} resultou em R\$ 0,064.

$$E_{LE} = V_{RRE} \cdot [(M_{CF} + C_{PE}) + (C_{MOD} + C_{MOI}) + C_{AC}]$$

$$E_{LE} \text{ (Hemograma)} = 4,11 - [(0,60 + 0) + (0,18 + 0,081) + 0,064]$$

$$E_{LE} \text{ (Hemograma)} = 4,11 - 0,925$$

$$E_{LE} \text{ (Hemograma)} = 3,185$$

No exemplo idealizado verificou-se que o lucro sobre cada hemograma, tomado como base o valor da tabela SUS, foi de R\$ 3,18.

CONCLUSÃO

Após análise da rotina administrativa e contábil em laboratório de análises clínicas e levantamento de estudos temáticos foi possível elaborar um método matemático para aferir a estimativa mais próxima possível do lucro real obtido pela realização de cada exame laboratorial.

A construção da fórmula poderá auxiliar gestores de laboratórios no processo de tomada de decisão e colaborar ainda com o controle de qualidade em inúmeras possibilidades. O resultado desta metodologia tem aplicação ampla e cabe ao gestor interpretar o resultado e suas aplicações múltiplas.

Conhecer o lucro real ou sua estimativa em cada unidade de produto pode proporcionar vantagens diversas à organização, seja do ponto de vista do proprietário, governamental ou aos acionistas nas empresas de capital aberto.

Abstract

Objective: Propose a mathematical method that aims to determine the estimated profit of laboratory tests, favoring a more effective management. **Methods:** Descriptive cross-sectional empirical study with a quantitative approach. Raising the costs of a particular laboratory located in Goiânia, Goiás was performed by using formulas to the profitability analysis. The costs were grouped into categories and subsequently received an abbreviation identification. **Results:** The formulas provide results which

can be used for multiple purposes. Managers of clinical laboratories: enables you to check whether the amount charged in particular regime is sufficient to cover the direct and indirect costs of production; allows to estimate the profit of the same examination, upper or lower case adopted methodology, where the manager can make a comparison and choose the most convenient; Set new goals and new organizational goals. The Unified Health System (SUS): rectify paid to private labs values; Equipping laboratories with public methods capable to effectively serve their users and inexpensively; Plan service outsourcing for exams according to the formulas present high costs or that outsourcing itself presents major advantage. Investors and shareholders of clinical laboratories: opine on projects to leverage the segments that have the greatest competitive advantage and optimizing the others. **Conclusion:** After analysis of survey and laboratory profile of thematic studies was possible to develop a mathematical methodology for benchmarking the nearest possible estimate of the actual profit earned by the completion of each laboratory test.

Palavras-chave

Laboratory; Profitability; Health Management

REFERÊNCIAS

1. Iudícibus S de, Marion JC. Curso de Contabilidade para Não Contadores. 6ª ed. Atlas: São. Paulo, 2009. 274p.
2. Padoveze CL. O papel da Contabilidade Gerencial no processo empresarial de criação de valor. Cad. estud. [online]. 1999, n.21, pp. 01-16. ISSN 1413-9251.
3. Brimson J. Contabilidade por atividades: uma abordagem de custeio baseado em atividades; trad. Antonio T. G. Carneiro. São Paulo: Atlas, 1996.
4. Abbas K. Gestão de custos em organizações hospitalares. 2001. 171 f. Dissertação. (Mestrado em Engenharia de Produção). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2001.
5. Souza MA, Lisboa LP, Rocha W. Práticas de contabilidade gerencial adotadas por subsidiárias brasileiras de empresas multinacionais. Rev. contab. finanç. [online]. 2003, vol.14, n.32, pp. 40-57. ISSN 1808-057X.
6. Juras PE, Dierks PA, Barona SS. Building activity-flow cost models in spreadsheets. Journal of Cost Management (Spring) 1996;10:70-9.
7. Carvalho JM. Sistemas de custeio: Tradicionais versus Contemporâneos. Jornal da APOTEC, Dezembro, 1999.
8. Regulação em saúde. CONASS, 10, 126. Conselho Nacional de Secretários de Saúde (CONASS). Brasília, 2011. 126p. (Coleção para entender a gestão do SUS 2011, v.10).
9. Mugnol KCU, Ferraz MB. Sistema de informação como ferramenta de cálculo e gestão de custos em laboratórios de análises clínicas. J Bras Patol Méd Lab [online]. 2006;42(2):95-102.
10. Alves SL, Quicuco O. Cálculo do resultado financeiro em laboratórios clínicos. Rio de Janeiro: Diagraphic, 2000.
11. Young DS, Sachais BS, Jefferies LC. Laboratory costs in the context of disease. Clin Chem. 2000 Jul;46(7):967-75.
12. Vasconcellos MA, Garcia ME. Fundamentos de Economia. Saraiva. 3ª Edição. 2009.
13. Silva JM, Rodrigues AI. LALUR - Guia Prático de Escrituração do Livro de Apuração do Lucro Real 2006. 4. ed. São Paulo, Cenofisco, 2006.

Correspondência

Daniel Rodrigues de Bastos
Avenida Universitária Nr 1.069 - Setor Universitário,
Área IV (Bloco D da Reitoria)
74605-010 – Goiânia, GO, Brasil
Caixa Postal 86

Vaginose bacteriana diagnosticada em exames citológicos de rotina: prevalência e características dos esfregaços de Papanicolaou

Bacterial vaginosis diagnosed in routine cytology tests: prevalence and characteristics of Papanicolaou smears

Luiz Guilherme Ditter Toninato¹
Mary Mayumi Taguti Irie²
Marcia Edilaine Lopes Consolaro³
Jorge Juarez Vieira Teixeira³
Cinthia Gandolfi Boer³

Resumo

Vaginose bacteriana (VB) é uma síndrome polimicrobiana não inflamatória que acomete o trato genital feminino inferior, sendo caracterizada pelo crescimento exacerbado de uma variedade de bactérias anaeróbicas, especialmente *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus* spp., substituindo ou reduzindo acentuadamente a microbiota vaginal normal, constituída pelos lactobacilos. A possibilidade da utilização dos esfregaços de Papanicolaou como método auxiliar no diagnóstico da VB parece altamente atrativa, uma vez que o exame é realizado rotineiramente, tanto em mulheres sintomáticas quanto assintomáticas, e apresenta baixo custo. O objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência de vaginose bacteriana nos exames citológicos de rotina, bem como avaliar as características dos esfregaços positivos. Uma análise retrospectiva dos resultados citológicos foi conduzida no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2006. A prevalência de VB na população estudada foi de 5,03% e a média de idade de 40,91 anos. *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus* spp. foram detectados em 61,04% e 20,78% dos esfregaços, respectivamente. Em 18,18% dos casos foram encontrados ambos os microrganismos. Inflamação foi diagnosticada em 59,74% das pacientes. Pesquisas adicionais são necessárias para um melhor entendimento sobre a associação entre VB e processo inflamatório.

Palavras-chave

Esfregaço de Papanicolaou; Vaginose bacteriana; *Gardnerella vaginalis*; *Mobiluncus*

INTRODUÇÃO

A vaginose bacteriana (VB) é a infecção vaginal mais frequente e a principal causa de corrimento vaginal anormal em mulheres em idade reprodutiva.⁽¹⁻³⁾ Esta síndrome acomete o trato genital feminino inferior, sendo caracterizada por uma acentuada redução na microbiota vaginal normal, constituída predominantemente pelos lactobacilos, e um crescimento exacerbado de uma variedade de bactérias anaeróbicas.^(4,5) As bactérias mais comumente associadas à VB são *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* spp., *Bacteroides* spp. e *Mycoplasma hominis*.^(3,6,7)

O principal sintoma associado à VB é uma intensa secreção vaginal homogênea, de coloração branca ou acinzentada, com odor desagradável. Entretanto, metade

das pacientes apresenta-se assintomática.⁽⁸⁻¹⁰⁾ Trata-se de um problema de saúde pública, uma vez que a VB está associada a complicações ginecológicas e obstétricas, incluindo doença inflamatória pélvica, endometrite, infecção pós-cirurgia ginecológica, nascimento prematuro, podendo ainda aumentar o risco de aquisição e transmissão do vírus da imunodeficiência humana (HIV).^(7,9,11)

O diagnóstico clínico da VB é feito com base nos critérios estabelecidos por Amsel et al.,⁽¹²⁾ por meio da identificação de pelo menos três destas características: secreção vaginal fluida e homogênea; pH vaginal acima de 4,5; teste das aminas positivo e presença de *clue-cells* (células-chave) na avaliação microscópica de secreção vaginal a fresco.^(3,7,11) A avaliação microscópica dos esfregaços vaginais corados pela coloração de Gram é atualmente o método

¹Aluno do Curso de Especialização em Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, PR, Brasil.

²Farmacêutica-Bioquímica do Laboratório de Citologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Universidade Estadual de Maringá, PR, Brasil.

³Docente do Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Universidade Estadual de Maringá, PR, Brasil.

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Citologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina da Universidade Estadual de Maringá, PR, Brasil.

Artigo recebido em 07/10/2011
Artigo aprovado em 17/05/2016

mais utilizado para o diagnóstico da VB, devido à sua alta sensibilidade e reprodutibilidade.^(7,10,11) O esfregaço corado por Gram é tradicionalmente avaliado pelo sistema de Nugent,⁽¹³⁾ que consiste em atribuir valores quantitativos por campo microscópico de três diferentes morfotipos bacterianos: grandes bacilos Gram positivos, pequenos cocobacilos Gram variáveis, e bacilos curvos Gram negativos. Um escore maior ou igual a 7 caracteriza a vaginose bacteriana.^(3,14) A cultura para *G. vaginalis* é um método bastante sensível; entretanto, apresenta baixa especificidade, uma vez que este microrganismo pode ser encontrado na microbiota vaginal normal de um grande número de mulheres.^(3,6) Abordagens moleculares têm identificado várias espécies anaeróbicas nos casos de VB, revelando microrganismos não detectados anteriormente em culturas.⁽¹⁵⁾

O diagnóstico citológico através dos esfregaços de Papanicolaou é amplamente aceito como método de rastreamento para a detecção das lesões pré-cancerosas e do câncer inicial do colo uterino. Entretanto, há um crescente interesse em sua utilização como auxiliar no diagnóstico de algumas infecções cérvico-vaginais, por ser um exame rápido e de baixo custo.^(16,17) Além disso, como exame de rotina para a prevenção do câncer de colo uterino, um grande número de mulheres é submetido periodicamente a ele, permitindo assim uma maior cobertura, tanto de pacientes sintomáticas quanto assintomáticas.^(2,18)

Diversos trabalhos têm demonstrado a importância do método de Papanicolaou para o diagnóstico de vaginose bacteriana.^(2,6,8,11,19) Assim, os objetivos deste trabalho foram avaliar a prevalência de vaginose bacteriana nos exames citológicos de rotina, as características dos esfregaços positivos para VB, bem como a idade das pacientes e os sintomas relatados.

MATERIAL E MÉTODOS

Um estudo retrospectivo foi realizado no Setor de Citologia Clínica do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), com base na análise dos resultados de exames citológicos cérvico-vaginais (teste de Papanicolaou) coletados de pacientes atendidas pelo referido setor, no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2006. Pacientes da comunidade universitária (estudantes, docentes e funcionárias) foram incluídas neste estudo. Pacientes não pertencentes à comunidade universitária, pacientes cujas fichas apresentavam dados incompletos e menores de 18 anos foram excluídas.

As amostras citológicas foram obtidas por meio da coleta de material cérvico-vaginal realizada com auxílio de espátula de Ayre e cytobrush, ou somente vaginal para pacientes histerectomizadas. Após fixação do material, os esfregaços foram corados pelo método de Papanicolaou e

analisados ao microscópio óptico em aumentos de 100X e 400X, e eventualmente 1000X para confirmação dos microrganismos. Os resultados foram expressos segundo o Sistema Bethesda.⁽²⁰⁾ Os critérios morfológicos utilizados para observação dos microrganismos foram os descritos por Gupta,⁽²¹⁾ Silva Filho e Longatto Filho.⁽²²⁾

Neste estudo, os casos classificados como vaginose bacteriana eram aqueles nos quais microrganismos com morfologia sugestiva de *Gardnerella vaginalis* e/ou *Mobiluncus* spp. eram observados, na presença eventual de microbiota mista. Os esfregaços apresentavam células escamosas individuais revestidas por uma camada de bactérias obscurecendo as margens das membranas celulares, formando as denominadas clue cells, e ausência de lactobacilos. Esfregaços citológicos que apresentavam associação do quadro de vaginose bacteriana com outros patógenos e lesões intraepiteliais escamosas foram excluídos (5 casos).

Dados como idade e sintomatologia cérvico-vaginal foram extraídos das fichas das pacientes com resultado citológico de vaginose bacteriana através de revisão retrospectiva. Os resultados foram correlacionados com presença ou não de corrimento e/ou prurido, faixa etária das pacientes acometidas, microrganismos envolvidos e associação ou não com processo inflamatório.

Os dados foram tabulados no *software* Microsoft® Excel 2007 e a análise estatística foi realizada no *software* OpenEpi 2.3, pelo teste do qui-quadrado de Pearson, considerando o nível de significância para $p < 0,05$.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (COPEP) da UEM (Parecer n° 106/2007).

RESULTADOS

Durante o período estudado, foram avaliados 1.531 exames citológicos. A análise dos resultados mostrou que a média de idade das pacientes com vaginose bacteriana foi de 40,91 anos, com uma variação de 22 a 61 anos.

Um total de 77 (5,03%) casos foi positivo para vaginose bacteriana. As características clínicas e a faixa etária das pacientes com VB avaliadas neste estudo estão apresentadas na Tabela 1. A maior frequência de VB foi observada no grupo de idade de 40 a 49 anos (38,96%), seguido pelo grupo de 30 a 39 anos (32,47%). A maioria das pacientes era assintomática (59,74%). Dentre os sintomas relatados, corrimento vaginal foi o mais frequente, e estava presente em 38,96% dos casos. Os dados mostram ainda que não houve associação estatisticamente significativa entre as variáveis estudadas.

A distribuição dos diferentes microrganismos observados nos casos de vaginose bacteriana é mostrada na Tabela 2. *Gardnerella vaginalis* foi encontrada em 79,22%

Tabela 1 - Distribuição da faixa etária e sintomatologia cérvico-vaginal nos casos de vaginose bacteriana (n = 77)

Variável	Vaginose bacteriana		Intervalo de 95% de confiança
	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)	
Idade (anos)*			
20-29	10	12,99	6,79 - 21,93
30-39	25	32,47	22,73 - 43,50
40-49	30	38,96	28,57 - 50,17
≥ 50	12	15,58	8,73 - 24,99
Sintomatologia cérvico-vaginal*			
Sim	31	40,26	29,76 - 51,48
Não	46	59,74	48,52 - 70,24

Estatisticamente significante para p<0,05. *Não significante.

Tabela 2 - Prevalência de *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus* spp. nos casos de vaginose bacteriana diagnosticada em exames citológicos de rotina.

Microorganismo	Nº de casos	%
<i>Gardnerella vaginalis</i>	47	61,04
<i>Mobiluncus</i> spp.	16	20,78
<i>G. vaginalis</i> + <i>Mobiluncus</i> spp.	14	18,18
Total	77	100,0

dos casos, sendo que em 18,18% havia associação com *Mobiluncus* spp.

A Tabela 3 mostra a relação entre os microrganismos mais frequentemente encontrados nos casos de VB e a presença de processo inflamatório. Em 46 (59,74%) casos de VB foi possível observar características inflamatórias no esfregaço citológico. Entretanto, infecção por *G. vaginalis* e/ou *Mobiluncus* spp. e o desenvolvimento de processo inflamatório não se mostraram estatisticamente associados.

Tabela 3 - Correlação entre inflamação observada nos exames citológicos de rotina e a presença de microrganismos associados à vaginose bacteriana

Variável	Inflamação associada		OR	Intervalo de 95% de confiança	Valor de p
	Sim	Não			
<i>Mobiluncus</i> spp.	10	6	1		
<i>Gardnerella vaginalis</i>	29	18	0,97	0,28 - 3,15	0,96
<i>G. vaginalis</i> + <i>Mobiluncus</i> spp.	7	7	0,61	0,28 - 3,15	0,52

Estatisticamente significante para p<0,05, OR: *odds ratio*.

A Figura 1 mostra a diferenciação do padrão lactobacilar (1A) do anaeróbico (1B a 1F), quadros com ou sem processo inflamatório associado (1D e 1C, respectivamente), e a identificação das clue cells (1B, 1E e 1F). Como pode ser observado, infecção por *Gardnerella vaginalis* é caracterizada por células escamosas individuais cobertas por uma camada uniforme de cocobacilos, particularmente ao longo da margem da membrana celular, formando as

chamadas *clue cells* (Figura 1E). Na figura 1F, observamos a presença de bacilos curvos em forma de vírgula sobre as células escamosas (*comma cells*), dando aspecto de "tapete de pêlo", sugerindo infecção por *Mobiluncus* spp.

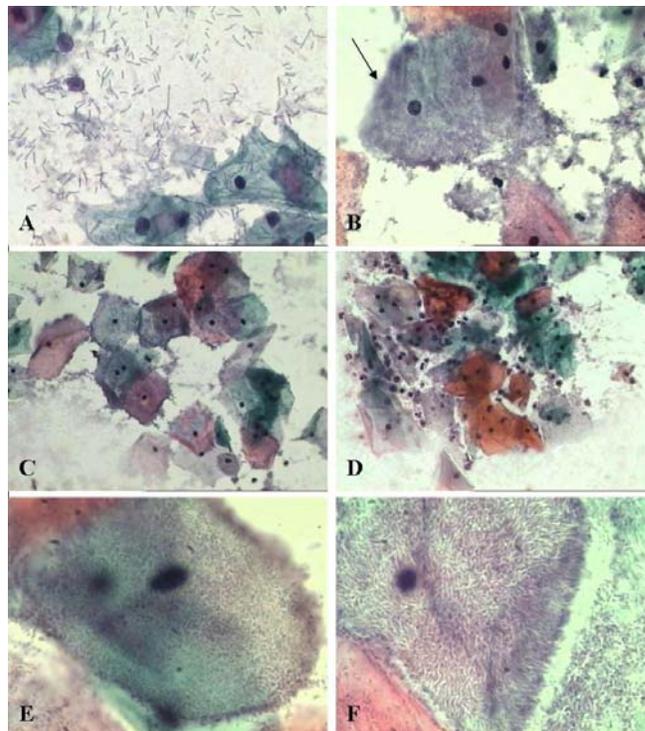


Figura 1. Esfregaços cérvico-vaginais são mostrados. *Lactobacilos* e *citólise secundária* (A). *Vaginose bacteriana* (B-F). A seta indica uma típica *clue cell* (B). *Presença de numerosas clue cells e ausência de características inflamatórias* (C). *Reação inflamatória com degeneração das células epiteliais e numerosos leucócitos polimorfonucleares* (D). *Clue cell: presença de cocobacilos cobrindo toda a célula escamosa, com marginalização das bactérias, sugerindo infecção por Gardnerella vaginalis* (E) e *célula escamosa coberta com bacilos curvos com características morfológicas sugestivas de Mobiluncus spp., dando aspecto de tapete de pêlo* (F). (A, B, 400X; C, D, 200X; E, F, 1000X; Coloração de Papanicolaou).

DISCUSSÃO

Vaginose bacteriana é uma síndrome polimicrobiana na qual os lactobacilos vaginais normais, particularmente os produtores de peróxido de hidrogênio, são substituídos por uma variedade de bactérias anaeróbicas, especialmente *Gardnerella vaginalis* e espécies de *Mobiluncus*.^(10,23,24) Os lactobacilos desempenham um papel crítico na manutenção do ecossistema vaginal normal por prevenir o crescimento exacerbado de microrganismos potencialmente patogênicos através da produção de ácido láctico, peróxido de hidrogênio, bacteriocinas e outras substâncias antimicrobianas.^(9,15,25) Além disso, alguns lactobacilos podem aderir ao epitélio vaginal e dessa forma interferir com a capacidade de adesão de determinados patógenos.^(1,9,15)

A frequência de VB na população estudada foi de 5,03%. Storti-Filho et al.⁽¹⁸⁾ descreveram prevalência de *clue cells* sugestivas de *Gardnerella vaginalis* entre 3,53% e 6,57%, dependendo da população estudada. Outros autores encontraram frequências de VB entre 8,3% e 31,9% nos esfregaços de Papanicolaou.^(10,11,26,27) Diversos trabalhos relatam que a prevalência da VB é influenciada pelas características da população estudada e pela variação no método utilizado para o diagnóstico, podendo ocorrer desde 4% na população feminina em geral até mais de 40% entre mulheres atendidas em clínicas ginecológicas e especializadas em doenças sexualmente transmissíveis.^(4,7,8,28) É provável que a baixa prevalência observada neste estudo seja resultado das características da população estudada, bem como da metodologia utilizada, uma vez que as pacientes, independentemente de apresentar algum sinal ou sintoma de infecção genital, procuraram atendimento para realizar o exame periódico de Papanicolaou para prevenção do câncer de colo uterino.

Embora o exame de Papanicolaou não seja o teste de escolha para detecção de infecções cérvico-vaginais, este método apresenta especificidade entre 93%-98% para detecção de VB.^(2,4,6) Assim, o referido exame poderia atuar como uma importante ferramenta no diagnóstico da vaginose bacteriana, particularmente em mulheres assintomáticas, uma vez que possui boa cobertura populacional.^(2,7,18) Apesar de não ser o foco principal do exame de Papanicolaou, o relato da presença de microrganismos é essencial para a completa avaliação diagnóstica das amostras cérvico-vaginais, auxiliando no diagnóstico clínico, importante também para o tratamento.^(17,18)

O esfregaço citológico permite a detecção de *Gardnerella vaginalis* em amostras cérvico-vaginais, a identificação das *clue cells*, a diferenciação do padrão lactobacilar do anaeróbico, sendo também altamente específico para identificar a presença de bacilos curvos sugestivos de *Mobiluncus* spp.^(22,23) Schnadig et al.⁽²⁹⁾ sugerem o termo padrão anaeróbico para todas as variedades de pequenas bactérias vistas nos esfregaços de Papanicolaou onde não há predomínio de grandes bacilos (isto é, lactobacilos ou bacilos de Doderlein). *Gardnerella vaginalis* é a bactéria mais comumente encontrada nos casos de VB.^(15,18,19) Neste trabalho, esta bactéria foi encontrada em 79,22% dos casos, sendo que, em 18,18%, havia associação com *Mobiluncus* spp. Clinicamente, *Mobiluncus* spp. comporta-se de forma muito parecida à *G. vaginalis*. Microscopicamente, ambas as bactérias têm aspecto semelhante com a coloração de Papanicolaou em aumentos pequenos, sendo que a diferenciação necessita da observação sob imersão.^(22,23) Esta diferenciação é importante devido à resistência de alguns *Mobiluncus* spp. ao metronidazol.^(14,30)

A vaginose bacteriana não tem sido associada com sinais óbvios de inflamação como eritema, edema ou a presença de leucócitos vaginais.^(25,30) Entretanto, estudos têm demonstrado a presença de processo inflamatório nos esfregaços cérvico-vaginais de mulheres que apresentam esta infecção.^(16,27) Eleutério Júnior e Cavalcante⁽²⁴⁾ relataram que, na presença de bacilos curvos sugestivos de *Mobiluncus* spp., um maior número de leucócitos foi observado no esfregaço de Papanicolaou. Maeda et al.⁽²³⁾ classificaram os esfregaços citológicos com presença de *Mobiluncus* spp. como citologia inflamatória, com resposta epitelial reativa de leve a moderada. Neste trabalho, inflamação estava presente em 59,74% dos casos. Entretanto, não houve diferença significativa entre inflamação observada nos exames citológicos e a presença de *G. vaginalis* e/ou *Mobiluncus* spp. É possível que a microbiota vaginal presente na VB possa induzir uma resposta inflamatória; alternativamente, a inflamação vaginal encontrada nos casos de VB pode ser decorrente de infecções cérvico-vaginais concomitantes. O uso de técnicas mais sensíveis para detecção de patógenos cérvico-vaginais poderia contribuir para um melhor entendimento da relação entre processo inflamatório e vaginose bacteriana.^(5,25)

CONCLUSÃO

Neste trabalho observamos que a prevalência de vaginose bacteriana na população estudada foi de 5,03%, predominando em pacientes de 40 a 49 anos. A maioria das pacientes era assintomática. *Gardnerella vaginalis* foi o microrganismo mais encontrado. Embora a vaginose bacteriana seja considerada uma síndrome não inflamatória, neste estudo inflamação estava presente em 59,74% dos casos. Estudos adicionais utilizando métodos mais sensíveis para detecção de microrganismos em amostras cérvico-vaginais, bem como a avaliação de um número maior de pacientes, seriam interessantes para auxiliar no entendimento da associação entre vaginose bacteriana e processo inflamatório.

Abstract

Bacterial vaginosis (BV) is a polymicrobial, noninflammatory syndrome involving the lower genital tract that is characterized by an overgrowth of several anaerobic bacteria, specially Gardnerella vaginalis and Mobiluncus spp., and a reduction in or absence of lactobacillus colonization. The possibility of using the Papanicolaou smear as an auxiliary method for bacterial vaginosis is attractive, given its widespread use and low cost. The purpose of this study was to determine the prevalence of bacterial vaginosis detected by routine cytology tests, and to evaluate the characteristics of Papanicolaou smears. A retrospective analysis of cytology results was conducted from January 2002 to December 2006. The prevalence of BV in our study population was 5,03%. Of 77 women with BV studied, the median age was 40,91 years. Gardnerella vaginalis and Mobiluncus spp. were detected in 61,04% and 20,78% of the smears, respectively. In 18,18% of the cases were found both microorganisms. Although BV has traditionally been

considered a non-inflammatory syndrome, inflammation was diagnosed in 59,74% of women. Further research is needed to assess the association between BV and inflammation.

Keywords

Papanicolaou smear; Bacterial vaginosis; Gardnerella vaginalis; Mobiluncus.

REFERÊNCIAS

- Turovskiy Y, Sutyk Noll K, Chikindas ML. The aetiology of bacterial vaginosis. *J Appl Microbiol.* 2011 May;110(5):1105-28.
- Discacciati MG, Simoes JA, Amaral RG, Brolazo E, Rabelo-Santos SH, Westin MCA, Montemor EBL. Presence of 20% or more clue cells: an accurate criterion for the diagnosis of bacterial vaginosis in Papanicolaou smears. *Diagn Cytopathol.* 2006 Apr;34(4):272-6.
- Sha BE, Chen HY, Wang QJ, Zariffard MR, Cohen MH, Spear GT. Utility of Amsel criteria, Nugent score, and quantitative PCR for *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, and *Lactobacillus* spp. for diagnosis of bacterial vaginosis in human immunodeficiency virus-infected women. *J Clin Microbiol.* 2005 Sep;43(9):4607-12.
- Hasenack BS, Miquelão AKMB, Marquez AS, Pinheiro EHT, Urnau AP. Estudo comparativo dos diagnósticos de vaginose bacteriana pelas técnicas de Papanicolaou e Gram. *RBAC* 2008;40(2):159-62.
- Geisler WM, Yu S, Venglarik M, Schwebke JR. Vaginal leucocyte counts in women with bacterial vaginosis: relation to vaginal and cervical infections. *Sex Transm Infect.* 2004 Oct;80(5):401-5.
- Tokyo C, Aktepe OC, Cevrioglu AS, Altindis M, Dilek FH. Bacterial vaginosis: comparison of Pap smear and microbiological test results. *Mod Pathol.* 2004 Jul;17(7):857-60.
- Yen S, Shafer MA, Moncada J, Campbell CJ, Flinn SD, Boyer CB. Bacterial vaginosis in sexually experienced and non-sexually experienced young women entering the military. *Obstet Gynecol.* 2003 Nov;102(5 Pt1):927-33.
- Eriksson K, Adolfsson A, Forsum U, Larsson PG. The prevalence of BV in the population on the Aland Islands during a 15-year period. *APMIS.* 2010 Nov;118(11):903-8.
- Bradshaw CS, Brotman RM. Making inroads into improving treatment of bacterial vaginosis - striving for long-term cure. *BMC Infect Dis.* 2015 Jul;15:292.
- Brooks-Smith-Lowe K, Rodrigo S. Prevalence of bacterial vaginosis in Grenadian women of reproductive age. *West Indian Med J.* 2013 Sep;62(7):599-603.
- Karani A, Vuyst H, Luchters S, Othigo J, Mandaliya K, Chersich MF, et al. The Pap smear for detection of bacterial vaginosis. *Int J Gynecol Obstet.* 2007 Jul;98(1):20-3.
- Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KCS, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med.* 1983 Jan;74(1):14-22.
- Nugent RP, Krohn MA, Hillier SI. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991 Feb; 29(2):297-301.
- Livengood CH. Bacterial vaginosis: an overview for 2009. *Rev Obstet Gynecol.* 2009;2(1):28-37.
- Africa CW, Nel J, Stemmet M. Anaerobes and bacterial vaginosis in pregnancy: virulence factors contributing to vaginal colonisation. *Int J Environ Res Public Health.* 2014 Jul;11 (7):6979-7000.
- Baka S, Tsirmpa I, Chasiakou A, Tsouma I, Politi E, Gennimata V, et al. Inflammation on the cervical Papanicolaou smear: evidence for infection in asymptomatic women. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2013;2013:184302.
- Arora BB, Maheshwari M, Devgan N, Arora DR. Prevalence of trichomoniasis, vaginal candidiasis, genital herpes, chlamydiasis, and actinomycosis among urban and rural women of Haryana, India. *J Sex Transm Dis.* 2014;2014:963812.
- Storti-Filho A, Souza PC, Souza RJS, Pereira MW, Mello ICJ, Svidzinski TIE, Lopes-Consolaro ME. Prevalence of clue cells suggestive for *Gardnerella vaginalis* in population-based cervical screening in the public versus private health care in Maringá, Paraná, Brazil. *Arch Gynecol Obstet.* 2011 Apr;283(4):781-5.
- Demirezen S. Review of cytologic criteria of bacterial vaginosis: examination of 2,841 Papanicolaou-stained vaginal smears. *Diagn Cytopathol.* 2003 Sep;29(3):156-9.
- Solomon D. The Bethesda System for cervicovaginal cytopathology. In: Bibbo M. *Comprehensive Cytopathology.* 2. ed. Philadelphia: Saunders; 1997. p.93-100.
- Gupta PK. Microbiology, inflammation, and viral infections. In: Bibbo M. *Comprehensive Cytopathology.* 2. ed. Philadelphia: Saunders; 1997. p.125-160.
- Silva Filho AM, Longatto Filho A. Colo Uterino e Vagina: Processos Inflamatórios - Aspectos Histológicos, Citológicos e Colposcópicos. Rio de Janeiro: Revinter; 2000. p.85-165.
- Maeda MYS, Shirata NK, Pereira GMC, Pereira SMM, Yamamoto LSU. Identificação diferencial do *Mobiluncus* sp nas vaginose bacterianas através do diagnóstico morfológico e sua importância na rede de Saúde Pública. *Rev Bras Med.* 1994 Mar;51(3):361-8.
- Eleutério Júnior J, Cavalcante DIM. Contagem de morfotipos de *Mobiluncus* sp e concentração de leucócitos em esfregaços vaginais de pacientes com vaginose bacteriana. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2004 Abr;26(3):221-5.
- Donders GGG. Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2007 Jun;21(3):355-73.
- Karabulut A, Alan T, Ekiz MA, Iritas A, Kesen Z, Yahsi S. Evaluation of cervical screening results in a population at normal risk. *Int J Gynecol Obstet.* 2010 Jul;110(1):40-2.
- Barouti E, Farzaneh F, Sene AA, Tajik Z, Jafari B. The pathogenic microorganisms in Papanicolaou vaginal smears and correlation with inflammation. *J Family Reprod Health.* 2013 Mar;7(1):23-7.
- Kenyon C, Colebunders R, Crucitti, T. The global epidemiology of bacterial vaginosis: a systematic review. *Am J Obstet Gynecol.* 2013 Dec;209(6):505-23.
- Schnadig VJ, Davie KD, Shafer SK, Yandell RB, Islam MZ, Hannigan EV. The cytologist and bacterioses of the vaginal-ectocervical area. Clues, commas and confusion. *Acta Cytol.* 1989 May-Jun;33(3):287-97.
- Culhane JF, Nyirjesy P, McCollum K, Goldenberg RL, Gelber SE, Cauci S. Variation in vaginal immune parameters and microbial hydrolytic enzymes in bacterial vaginosis positive pregnant women with and without *Mobiluncus* species. *Am J Obstet Gynecol.* 2006 Aug;195(2):516-21.

Correspondência

Cinthia Gandolfi Boer

Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina

Universidade Estadual de Maringá

Avenida Colombo, 5790 - Campus Universitário

87020-900 - Maringá, Paraná, Brasil.

E-mail: cgboer2@gmail.com



Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS
Brazilian Journal of Clinical Analysis

ISSN 2448-3877 – Versão Online
ISSN 0370-369-x – Versão Impressa

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* [RBAC], criada em 1969, é o órgão oficial de divulgação científica da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas [SBAC]. A RBAC tem circulação trimestral e seus artigos estão indexados no LILACS [Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde].

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

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

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

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

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

Quando a investigação envolver seres humanos, a publicação do manuscrito estará condicionada ao cumprimento irrestrito das diretrizes normativas do Conselho Nacional de Saúde [CNS] e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa [CONEP]. A declaração de que os procedimentos seguidos nos experimentos estão em consonância com os princípios éticos aceitos pelas normativas nacional (Resolução CNS 466/2012) e internacional (Declaração de Helsinki/ World Medical Association) deverá ser explicitamente firmada no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética em Pesquisa [CEP] da instituição responsável pela investigação deverá ser também aí declarado. Uma cópia em ".pdf" da autorização do CEP deverá ser encaminhada juntamente com o manuscrito. Quando se tratar de pesquisa com animais, as normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal [CONCEA] e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal [COBEA], bem como do Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [Institute for Laboratory Animal Research/ National Academy of Science - USA] deverão ser incondicionalmente respeitadas e seu cumprimento também deverá ser declarado, explicitamente, no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais [CEUA] da instituição responsável pela pesquisa deverá ser igualmente declarado e uma cópia em ".pdf" da autorização do CEUA deverá ser, da mesma forma, encaminhada com o manuscrito. Quando os autores forem filiados a instituições não brasileiras, estes deverão declarar no manuscrito o cumprimento de diretrizes normativas e remeter documentação local de mesmo efeito legal.

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

é igualmente aceito pela RBAC. O número de identificação/ identificador primário deverá ser declarado ao final da seção Material e Métodos.

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

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

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

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

ARTIGOS ORIGINAIS: trabalhos nos quais são informados os resultados obtidos em pesquisas de natureza empírica ou experimental original, cujos resultados possam ser replicados e/ou generalizados. Deverão atender aos princípios de objetividade e clareza da questão norteadora. Os artigos originais deverão ser estruturados de maneira a conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 250 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

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

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

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

RELATO DE CASO: trabalhos com descrição detalhada e análise crítica de casos clínico-laboratoriais atípicos que, pela sua raridade na literatura ou apresentação não usual, merecem uma divulgação e discussão científica. Os relatos de casos deverão conter: título (até 200 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract com contexto e relato contendo descrição, discussão e conclusão (até 200 palavras), introdução, apresentação e relato do caso, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 25 referências). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

NOTA TÉCNICA: Descrição/ validação de instrumentos, métodos e técnicas. Sua estruturação deverá conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 200 palavras), introdução, metodologia e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto ordenado (títulos e subtítulos) não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

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

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

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

EDITORIAIS: escritos a convite do editor, sob tema específico, mas considerando a área de enfoque da *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. Deverão conter um máximo de 2000 palavras e até 10 referências bibliográficas. Não serão aceitos editoriais enviados espontaneamente.

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

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

ESTRUTURA DOS ARTIGOS	
Português	Inglês
Título Completo <i>Incluir versão em Inglês</i>	Complete Title Incluir versão em Português
Título Corrido <i>Incluir versão em Inglês</i>	Running Title Incluir versão em Português
Autores	Authors
Resumo <i>Incluir versão em Inglês</i>	Summary Incluir versão em Português
Palavras-Chaves <i>Incluir versão em Inglês</i>	Keywords Incluir versão em Português
Introdução	Introduction
Material e Métodos	Material and Methods
Ética	Ethics
Resultados	Results
Discussão	Discussion
Conclusão	Conclusion
Conflito de interesse	Conflicts of Interests
Suporte Financeiro	Funding Sources
Agradecimentos	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, bem como ser conciso e claro, pondo em relevo, de forma precisa, os fatos de maior importância encontrados e as conclusões obtidas. Deverá ser elaborado ainda de forma estruturada, contendo introdução, objetivos, material e métodos, resultados, discussão e conclusões. Referências não deverão ser citadas e o emprego de acrônimos e abreviaturas deverá ser limitado.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

de rodapé, deverá ser utilizado algarismos romanos. As tabelas deverão ser elaboradas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e em sua parte inferior e sem linhas verticais. Não deverão ser utilizadas também linhas horizontais internas. Os dados das tabelas deverão ser digitados em tamanho 10 e com minúsculas, excetuando-se as letras do início das palavras e as siglas. Nas tabelas, deverá ser empregado espaçamento entrelinhas 1,5, sem qualquer forma de tabulação ou recuos de parágrafos. O comprimento da tabela não deverá exceder 55 linhas, incluindo título, e apresentar largura máxima de 17cm. Os dados apresentados em tabelas não deverão ser repetidos em gráficos. As tabelas deverão ser compostas em programa Word ou MS-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 ".tif" e medir no mínimo 12 x 17cm e no máximo 20 x 25cm. As escalas deverão ser indicadas por uma linha ou barra na figura e referenciadas, se necessário, na legenda. Os gráficos deverão ser preparados nos programas Microsoft Word ou MS-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 ".tif". Ilustrações coloridas somente poderão ser aceitas se os autores assumirem os custos. Os dados apresentados nas figuras não deverão repetir aqueles já descritos nas tabelas. Os locais aproximados onde as ilustrações serão colocadas deverão ser determinados no texto. As figuras deverão ser enviadas em arquivos separados. Não deverão ser enviados um número excessivo de figuras.

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

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

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

Observações Gerais:

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

Alguns exemplos de citações:

- **Um/dois autores:** No mesmo ano, Nishimura e Miyaji⁽²⁸⁾ mudaram a denominação do fungo para *Hortaea wernickii*, 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 Diabtes,⁽¹⁷⁾ os sinais e sintomas de hiperglicemia incluem: polidipsia, poliúria, perda de peso, fome exagerada, visão embaçada, infecções repetidas na pele e mucosas, dificuldade na cicatrização de ferimentos, fadiga e dores nas pernas (má circulação).

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

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

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

Observações Gerais:

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

TÍTULO DE ARTIGOS/ DOCUMENTOS: Os títulos dos artigos/ documentos consultados deverão ser referenciados em letras minúsculas, no entanto, a primeira palavra deverá ser iniciada por letra maiúscula. O texto do título não deverá vir nem em negrito e nem em itálico e deverá ser finalizado por ponto.

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

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

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

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

Alguns exemplos de referências:

Periódicos:

- **Um Autor:** Marques SA. 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:** Dettnerkofer 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, Niêro-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 Micologia 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, Concorrência 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: ____/____/____.

SBAC

- 43º CBAC na maior capital do país

- RBAC 100% online e nova publicação a SBAC no Laboratório



43º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas

- Cursos presenciais ao redor do país através das Regionais e Delegacias SBAC além das videoaulas



- Presença online com site responsivo, ações em redes sociais e um aplicativo com tudo que a SBAC oferece



- Fórum de Proprietários de laboratórios lançado no 42º CBAC, permanente no aplicativo e no portal e com a 2ª edição no 43º CBAC



- Lançamento da Frente Parlamentar em Defesa dos Laboratórios de Análises Clínicas

- Representatividade de classe junto aos órgãos reguladores



Obrigado a todos àqueles que fazem o setor das Análises Clínicas crescer e prosperar! Jerolino Aquino - presidente da SBAC

Jerolino Aquino



O Laboratório DLE há três décadas se dedica a Medicina Laboratorial no Brasil.

Somos uma empresa brasileira de saúde que investe na nacionalização de exames especializados com o intuito de diminuir a busca de soluções diagnósticas para doenças raras no exterior, reduzindo assim custos e prazos, para contribuir com a melhoria da assistência à saúde.

Com uma missão bem definida, oferecemos soluções globais práticas, em análises especializadas e em informações científicas atualizadas, para atender às necessidades específicas de laboratórios farmacêuticos, operadoras, prestadores de serviços de saúde e ao cliente referenciado.

O DLE atua nas áreas de Triagem Neonatal e Pré-natal, Bioquímica Genética, Genética Molecular, Citogenômica e testes para doenças raras.

Perceba nossa diferença.

Os exames oferecidos pelo Laboratório DLE estão disponíveis em todo o Brasil. Faça contato.

Certificações/Acreditações



Participação em Programas de Proficiência



Canal do Cliente 4020-8080

Seg. a Sex. das 08h às 18h | Ao custo de uma ligação local.

DLE.com.br | (11) 5907-8181 | (21) 3299-3000