

RBAC

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

SUMÁRIO

Diabetes mellitus: prevalência e idade de manifestação na Lipodistrofia Generalizada Congênita	3
<i>Maria Goretti do N. Santos; Zélia M. de Souza; Tereza Neuma de S. Brito;</i>	
<i>Maria de Fátima P. Baracho & Tereza M. Dantas de Medeiros</i>	
Diabetes mellitus: prevalence and manifestation age in Congenital Generalized Lipodystrophy	
Prevalência das lesões intra-epiteliais escamosas em exame citológico numa determinada população de Santo Ângelo, RS	7
<i>Vera R. A. Vargas; Ezequiel A. Dalla Corte; Rita G. Amaral & Honório S. Menezes</i>	
Prevalence of squamous intraepithelial lesions in cytologic smear in a specific population of Santo Ângelo, RS	
Enteroparasitoses em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) atendidos no Hospital das Clínicas da UFPE	13
<i>Carlos Arcoverde; Vera Magalhães; Roberto A. Lima; Cleide Miranda; Ivan Guedes;</i>	
<i>Márcia Pascoal & Maria N. Lemos</i>	
Enteroparasitosis in infected patients with human immunodeficiency virus attended in the UFPE Clinical Hospital, Brazil	
Prevalência de infecções pelo <i>Strongyloides stercoralis</i> em uma área específica, vila dos Papeleiros, na cidade de Porto Alegre, RS	19
<i>Daiane R. Pavelecini, Fernanda P. Borges, Rafael V. Michel, Renata C. M. Wiltusching, Francine G. Neves,</i>	
<i>Juliana F. Ribeiro, Tiana Tasca & Geraldo A. De Carli</i>	
Prevalence of <i>Strongyloides stercoralis</i> infection in selected area in the slum of Papeleiros in the city of Porto Alegre, RS	
Variabilidade biológica em parâmetros hematológicos	23
<i>Walniza Fátima Girelli; Paulo Henrique da Silva; Cyntia M. T. Fadel-Picheth & Geraldo Picheth</i>	
Biological variability in hematological quantities	
Monitoramento da anemia em pacientes com insuficiência renal crônica	29
<i>Ana Cristina Maciel Vilar de Queiroz; Andréa Luiza Freire; Roberto Vasconcelos Chaves;</i>	
<i>Dyná Marcelino Atanásio; Sarah Dantas Viana Medeiros; Antônio Sérgio da Fonseca;</i>	
<i>Valéria Soraya de Farias Sales & Janaina Cristiana de Oliveira Crispim</i>	
The monitoring of anemia in patients with chronic renal deficiency	
Efeito do consumo de diferentes tipos de óleos sobre o perfil de lipídios plasmáticos de pacientes normocolesterolêmicos com artrite reumatóide	35
<i>Alair Alfredo Berbert; Juliana Geraix; Clisia M. Correia; Cecília Lisete Almendra; Cacilda Rosa Miiko Kondo;</i>	
<i>Glenys Mabel Caballero-Córdoba; Tiemi Matsuo & Isaías Dichi</i>	
Effects of different kind of oils on lipids profile from normocholesterolemic rheumatoid arthritis patients	
Troponina Ic como marcador na insuficiência cardíaca	39
<i>Rômulo Martins Kaiser; Alan Arriera Azambuja; Adroaldo Lunardelli & Jarbas Rodrigues de Oliveira</i>	
Ic troponin as a marker in the cardiac insufficiency	
Artigo de revisão	
Monitorização terapêutica de sirolimus	43
<i>Marisa Gütjahr Kayser</i>	
Sirolimus therapeutic monitoring	
Presença de <i>Enterococcus</i> sp. em alimento enteral e perfil de resistência a antimicrobianos	47
<i>Bernadete Helena Cavalcanti Santos, Evandro Leite de Souza & Isaura Oddi L. G. da Costa</i>	
Presence of <i>Enterococcus</i> sp. in enteral feeding and resistance profile to antimicrobials	
Micologia Médica: uma área das Análises Clínicas que está em expansão	51
<i>Eliana Guilhermetti; Erika Seki Kioshima; Cristiane Shinobu; Sivaldo C. Silva;</i>	
<i>Valdeci A. Mota & Terezinha Inez E. Svidzinski</i>	
Medical Micology: an emergent subject in clinical analysis	
Ocorrência de ovos de helmintos em amostras de fezes de cães (<i>Canis familiaris</i>) e gatos (<i>Felis gatus domestica</i>) na cidade de Aracaju - Sergipe - Brasil	55
<i>Celia Waylan Pereira</i>	
Ocurrence of helminths eggs in dogs excrement samples (<i>Canis familiaris</i>) and cats (<i>Felis gatus domestica</i>) in Aracaju city, Sergipe, Brazil	
Coleta de células-tronco hematopoéticas periféricas para transplante autólogo de medula óssea em pacientes com linfoma de Hodgkin	57
<i>Valússia Scapin & José Edson Paz da Silva</i>	
Collection of peripheral blood stem cells for autologous bone marrow transplantation in patients with Hodgkin's lymphoma	
Inteligência computacional avaliando o risco coronariano	61
<i>Aldir R. Perozin, Geny A. Cantos, Cláudia S. M. Silva, Maria da Graça Balen, Elisabeth M. Hermes,</i>	
<i>Carmen D. A. Waltrick, Rosilene L. Dutra & José Mazzucco Junior</i>	
Computational intelligence evaluating coronary arterial risk	

1

VOLUME 36

2004

Diabetes mellitus: prevalência e idade de manifestação na Lipodistrofia Generalizada Congênita*

Diabetes mellitus: prevalence and manifestation age in Congenital Generalized Lipodystrophy

Maria Goretti do Nascimento Santos¹; Zélia Maria de Souza¹; Tereza Neuma de Souza Brito¹;
Maria de Fátima Paiva Baracho² & Tereza Maria Dantas de Medeiros¹

RESUMO – A lipodistrofia generalizada congênita é uma doença genética com transmissão autossômica recessiva e elevada frequência de consangüinidade paterna. Trata-se de um raro distúrbio metabólico, com repercussões sistêmicas, caracterizado principalmente pela ausência quase total do tecido adiposo subcutâneo estando comumente associada à resistência insulínica. Tem como uma das manifestações clínicas o *Diabetes mellitus* cujas complicações associam-se aos distúrbios metabólicos da doença alterando sobremaneira as funções orgânicas do paciente. A realização deste trabalho teve como objetivo investigar a prevalência e a idade de manifestação do *Diabetes mellitus* nos portadores de Lipodistrofia Generalizada Congênita. Foram estudados 21 pacientes naturais do Rio Grande do Norte, sendo 8 (38,1%) do sexo masculino e 13 (61,9%) do sexo feminino numa faixa etária de 2 a 40 anos (média 14,13±9,8). O estudo foi realizado mediante análise do prontuário médico e determinações subsequentes da glicemia de jejum. Detectou-se que 52,4% da população estudada (11 pacientes: 6 do sexo feminino e 5 do sexo masculino) tinham *Diabetes mellitus* evidente cuja manifestação na grande maioria (81,8%) ocorreu na faixa etária menor que 20 anos e com predominância do sexo feminino (54,5%).

PALAVRAS-CHAVE – *Diabetes mellitus*, Lipodistrofia Generalizada Congênita, distúrbio metabólico, resistência insulínica.

SUMMARY – The Congenital Generalized Lipodystrophy is a genetic disease with an autosomal recessive transmission and a high frequency of paternal consanguinity. It is a rare metabolic disturbance, with systemic repercussions, mainly characterized by the almost total absence of the subcutaneous fatty tissue, being commonly associated to insulin resistance. It has as one of its clinical manifestations the *Diabetes mellitus* whose complications are associated to the metabolic disturbances of the disease, altering the patient's organic functions excessively. The realization of this piece of work had as its objective to investigate the prevalence and the manifestation age of the *Diabetes mellitus* in the bearers of Congenital Generalized Lipodystrophy. Twenty one subjects from Rio Grande do Norte were studied, 8 (38.1%) male and 13 (61.9%) female in an age group from 2 to 40 years (average 14.13±9.8). The study was accomplished by the analysis of the medical record and subsequent determinations of the fast glycaemia. It was detected that 52.4% of the studied population (11 subjects: 6 female and 5 male) had evident *Diabetes mellitus* whose manifestation, in the great majority (81.8%), happened in the age group under 20, with predominancy in the female (54.6).

KEYWORDS – *Diabetes mellitus*, Congenital Generalized Lipodystrophy, metabolic disturbance, insulin resistance.

INTRODUÇÃO

A Lipodistrofia Generalizada Congênita representa um raro distúrbio metabólico com repercussões sistêmicas, caracterizado por alterações na distribuição do tecido adiposo, gigantismo acromegalóide, hepatoesplenomagalía, infiltrações gordurosas no fígado, hirsutismo, pele grossa e hiperpigmentada, *acanthosis nigricans*, cardiomegalia, hipertrofia muscular, hiperlipidemia, hiperproteinemia, além de distúrbios no metabolismo dos carboidratos, levando ao desencadeamento do *Diabetes mellitus* resistente à insulina (Berardinelli, 1954, Reis *et al.* 1994, Rossini, 1994).

A forma congênita da Lipodistrofia Generalizada Congênita, também conhecida universalmente como Síndrome de Seip-Berardinelli, é uma doença genética, transmitida em caráter autossômico recessivo, com elevada frequência de consangüinidade paterna e incidên-

cia igual em ambos os sexos. (Almeida *et al.*, 1977, Rossini, 1994).

Apesar da resistência à insulina estar presente em todos os pacientes, a tolerância à glicose alterada ou o diabetes evidente pode ocorrer em um estágio mais tardio do curso natural da doença, geralmente, na infância ou adolescência, diferenciando-se do *Diabetes mellitus* tipo 1 pela pouca tendência à cetose e pela secreção inalterada da insulina. (De Pablo Velasco, 1996, Ganda, 2000, Tritos e Mantzoros, 1998).

A fisiopatologia do diabetes lipoatrófico envolve a secreção e a ação da insulina e o seu portador pode mostrar níveis normais ou excessivamente elevados de insulina sérica, não estando aumentada a utilização da glicose sangüínea pelo tecido periférico, levando à manifestação do *Diabetes mellitus* na infância ou na adolescência, chamando atenção para a ausência de cetose, muitas vezes em presença de elevados níveis de

Recebido em 27/2/2003

Aprovado em 14/3/2003

*Trabalho realizado no Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas: Bioanálises do CCS-UFRN

¹Professoras do Curso de Farmácia e Bioquímica da UFRN; ² Professora de Endocrinologia no curso de Medicina da UFRN

glicemia (Dörfler *et al.*, 1993, Garg *et al.*, 1992, Jorge *et al.*, 1988).

Tendo em vista ser o *Diabetes mellitus* uma das manifestações clínicas da Lipodistrofia Generalizada Congênita, objetiva-se com a realização deste trabalho investigar a sua prevalência relacionando-a com sexo e idade num grupo de 21 pacientes portadores desta síndrome.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

A população estudada foi constituída de 21 pacientes portadores de Lipodistrofia Generalizada Congênita, sendo 8 do sexo masculino e 13 do sexo feminino, numa faixa etária de 2 a 40 anos (média 14,13). Todos os pacientes são membros da Associação dos Portadores da Síndrome de Berardinelli, do Rio Grande do Norte (ASPOBERN), sendo em sua grande maioria, oriundos da região do Seridó.

Os pacientes, após tomarem conhecimento do projeto, assinaram o termo de consentimento e foram estudados mediante análise de prontuário médico contendo dados pessoais e de anamnese, bem como, por repetidas determinações laboratoriais da glicemia de jejum.

A coleta foi realizada no Laboratório de Bioquímica Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte e as amostras de sangue foram obtidas, em dias alternados, por punção venosa, após jejum de aproximadamente 12 horas e colocadas em frascos contendo EDTA-fluoretado. A concentração sérica da glicose foi determinada pelo método da glicose-oxidase-peroxidase, utilizando kit comercial Labtest e analisador semi-automático RA-50 da Bayer.

Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados através da determinação da média, além de cálculos percentuais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O portador de Lipodistrofia Generalizada Congênita pode apresentar alterações bioquímicas envolvendo vários órgãos cujo mecanismo central inclui uma resposta ineficaz à insulina levando ao desencadeamento de *Diabetes mellitus* e a uma incapacidade de produzir tecido adiposo. (Bjornstad, 1996, Gurakan *et al.*, 1995, Kaplan, 1970, Seip, 1971, Jorge *et al.*, 1988, Kodoma *et al.*, 1978, Seip, 1975).

A Tab. I apresenta os dados que identificam a população estudada quanto ao sexo, idade, grupo étnico e presença de *Diabetes mellitus*, onde se observa a predominância do sexo feminino e da raça caucasóide.

A Fig. 1 apresenta a população em estudo dividida

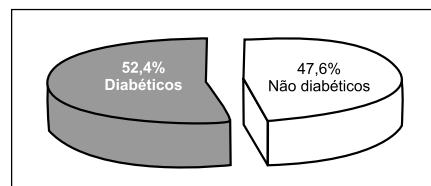


FIG. 1 - Representação gráfica da prevalência de *Diabetes mellitus* nos pacientes portadores de Lipodistrofia Generalizada Congênita.

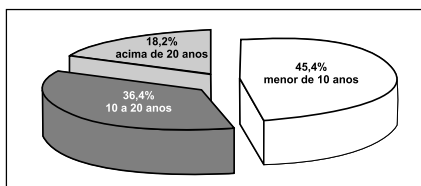


FIG. 2 - Representação gráfica dos pacientes portadores de Lipodistrofia Generalizada Congênita quanto à idade de manifestação do *Diabetes mellitus*.

TABELA I

Dados de identificação dos pacientes portadores de Lipodistrofia Generalizada Congênita

Nº	Paciente	Sexo	Grupo étnico	Idade (anos)	Presença de Dm	Idade de início de Dm
1	IRGM	F	N	2	Não	-
2	IRGM	F	N	5	Não	-
3	MFD	F	C	32	Sim	24
4	MVD	F	C	23	Sim	7
5	RWGF	M	C	13	Sim	11
6	MLM	F	C	4	Não	-
7	JDM	M	C	29	Sim	14
8	MFA	F	C	7	Sim	6
9	JFA	M	C	12	Sim	6
10	GBA	F	C	14	Não	-
11	MGBA	F	C	10	Não	-
12	PDS	F	N	7	Sim	7
13	VKCD	F	C	12	Sim	7
14	AMQ	M	C	7	Não	-
15	MRR	F	C	7	Não	-
16	IA	M	C	40	Sim	33
17	DAR	M	C	20	Não	-
18	FEA	M	C	16	Sim	16
19	SAR	F	N	17	Sim	15
20	GMD	M	C	16	Não	-
21	MDD	F	C	8	Não	-
Média		-	-	14,3	-	13,27
D. padrão		-	-	9,85	-	8,62

N = Negróide; C = Caucasóide; M = Masculino; F = Feminino; Dm = *Diabetes mellitus*

quanto à presença do *Diabetes mellitus*, representada por 47,6% de não diabéticos e 52,4% de diabéticos cuja idade de manifestação encontra-se na Fig. 2 onde se observa que na maioria dos casos (45,4%) o *Diabetes mellitus* teve início antes dos 10 anos, seguido de 27,3% dos casos com manifestação entre 11 e 15 anos.

As síndromes de extrema resistência à insulina compartilham vários achados laboratoriais, entre eles o hiperinsulinismo resultante do aumento na secreção de insulina e, em muitos casos, da redução do *clearance* da insulina. A tolerância à glicose alterada ou o diabetes evidente pode ocorrer em um estágio mais tardio do curso natural da doença, só se manifestando na puberdade ou na juventude. (Tritos e Mantzoros, 1998, Pablo Velasco, 1996, Ganda, 2000). Essas afirmações ficaram evidenciadas em nosso estudo, uma vez que 45,4% dos pacientes manifestaram *Diabetes mellitus* com idade inferior a 10 anos, seguida da faixa etária entre 10 e 20 anos com 36,4%, totalizando 81,8% da população manifestando o diabetes antes dos 20 anos de idade, conforme se encontra graficamente representada na Fig. 2.

Ao investigar a presença do *Diabetes mellitus* nos

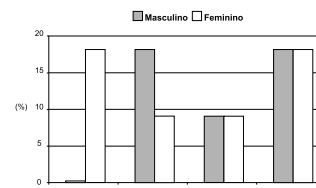


FIG. 3 - Representação gráfica da prevalência de *Diabetes mellitus* nos pacientes portadores de Lipodistrofia Generalizada Congênita, quanto à faixa etária e o sexo.

pacientes lipodistróficos, relacionada ao sexo e à faixa etária (Fig. 3), observou-se uma prevalência de 18,2% na população feminina menor de 10 anos e maior de 20 anos e 9,1% na faixa de 11 a 15 anos e de 16 a 20 anos. Em relação à população masculina, a maior prevalência foi observada na faixa de 11 a 15 anos e maior que 20 anos (18,2%) não sendo encontrado nenhum caso nos menores de 10 anos. Achados semelhantes não foram encontrados na literatura.

CONCLUSÕES

- O *Diabetes mellitus* esteve presente na maioria da população estudada, sobretudo na população feminina.
- O início do *Diabetes mellitus* ocorreu com maior frequência na idade inferior a 10 anos e de 11 a 15 anos.
- Na faixa etária anterior a 10 anos, a manifestação de *Diabetes mellitus* ocorreu apenas nos pacientes do sexo feminino.

REFERÊNCIAS

- Alcaraz Quiñero, M.; Leon, R. G.; Ortigosa, M. A. G.; Gimenez, R. D.; Ortiz, M. E. R.; Ripoll, A. A.; Gonzalez-Moro, L. Lipodistrofia Generalizada Congênita. *An. Esp. Pediatr.* v.37, n.2, p.173-174, 1992.
- Almeida, H. G. G.; Povoia, L. C.; Schemann, J. Contribuição ao estudo da síndrome de Lawrence-Berardinelli-Seip. *A Folha Médica.* v.74, n.2, p.159-167, 1977.
- Berardinelli, W. An undiagnosed endocrinometabolic syndrome: report of two cases. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* v.14, p.193-204, 1954.
- Bjornstad, P. G.; Foerster, A.; Ihlen, H. Cardiac findings in generalized lipodystrophy. *Acta Paediatr. Sup.* 413, p.39-43, 1996.
- De Pablos Velasco, P. L.; Martínez-Martin, F. J.; Garcia Puente, I. Diabetes lipodistrófica: revisión de la literatura. *Rev. Clin. Esp.* v.196, n.10, p.710-713, 1996.
- Dörfler, H.; Rauh, G.; Bassermann, R. Lipoatrophic diabetes. *Clin. Investig.* v.71, p. 264-269, 1993.
- Ganda, O. P. Lipoatrophy, lipodystrophy and insulin resistance. *Ann. Intern. Med.* v.133, n.4, p.304-306, 2000.
- Garg, A.; Fleckenstein, J. L.; Peshock, R. M. E Grundy, S. M. Peculiar distribution of adipose tissue in patients with Congenital Generalized Lipodystrophy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* v.75, n.2, p.358-361, 1992.
- Gurakan F.; Koçak, N.; Yüce, A. Congenital Generalized Lipodystrophy: Berardinelli syndrome. Report of two siblings. *Turk. J. Pediatr.* v.37, n.3, p.241-246, 1995.
- Jafri, N. e Zaidi, Z. Congenital Generalized Lipodystrophy. *J. Pak. Med. Assoc.* v.42, n.3, p.74-76, 1992.
- Jorge, P. T.; Silva, A. M.; Pereira, M. L. M.; Saad, F. A. Lipodistrofia Generalizada Congênita (síndrome de Seip-Berardinelli), Diabetes mellitus e síndrome nefrótica: relato de um caso. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* v.32, n.2, p.55-57, 1988.
- Kaplan, B. S. Congenital Generalized Lipodystrophy. *South Afr. Med. J.* v.44, n.33, p.945-948, 1970.
- Kodoma, S.; Kasuga, M.; Seki, A.; Ninomiya, M.; Sakurai, T.; Morishita, Y.; Matsuo, M. E Matsuo, T. Congenital Generalized Lipodystrophy with Insulin-Resistant Diabetes. *Eur. J. Pediatr.* v.127, n.2, p.111-119, 1978.
- Reis, O. L. L. Pedrosa, E. R. P.; Campos, A. R.; Monteiro, E. L. S.; Paula, M. J. R.; Leite, R. C.; Simão, S. T.; Santos, J. M. F.; Cavallieri, M. L. G.; Lima, A. S.; Pereira, W. A. Síndrome de Berardinelli - descrição de um caso. *Rev. Méd. Minas Gerais.* v.4, n.4, p.51-54, 1994.
- Rossini, A. A. Lipoatrophic diabetes. In: Kahn, C. R.; Weir, G. C. Joslin's Diabetes mellitus. 13th ed. Malvern: Lea e Febiger, 1994. Cap. 41 p.834-840.
- Seip, M. The Syndrome of generalized lipodystrophy. *Birth Defects Orig. Artic. Res.* v.11, n.2, p.325-327, 1975.
- _____. Generalized Lipodystrophy. *Ergeb inn med kinderholkd.* v.31, p.59-95, 1971.
- Sztajnberg, M. C.; Henriques, J. L. M.; Eisenstein, E.; Lucca, L. S.; Esteves, M. K. E Pompeu, F. Lipodistrofia Congênita Generalizada (síndrome de Mitchell-Lawrence-Berardinelli) - Relato de caso. *J. Bras. Med.* v.52, n.3, p.68-74, 1987.
- Tritos, N. A. E Mantzoros, C. S. Syndromes of severe insulin resistance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* v.83, n.9, p.3025-3030, 1998.
- Trinder, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. Clin. Biochem.* v.6, p.24-27, 1969.

Endereço para correspondência

Maria Goretti do Nascimento Santos
Rua Arnaldo Neves Silva, s/n - Bloco 10 - ap 203
Neópolis, Natal, RN - 59080-460
E-mail: goretti@eol.com.br

2004

III Encontro Nacional de Professores de Análises Clínicas

A SBAC reitera seu oferecimento de inscrição gratuita no congresso aos professores de análises clínicas, sócios ou não, permitindo-lhes participar das palestras, mesas-redondas, visitação aos stands e inscrição de trabalhos nos temas livres. Os cursos poderão ser frequentados mediante o pagamento da taxa de inscrição, desde que não conflitem com os horários do encontro de professores. Haverá verificação de presença.

Para participar, o interessado deve apresentar algum documento que comprove o vínculo empregatício com a Faculdade.

Contatos: **Prof. Antenor H.P. Pedrazzi** pedrazzi@cirp.usp.br

Tel.(0xx16)625-4970

Prof. Homero J. J. Lopes sac@goldanalisa.com.br

Tels.(0xx31)3275-3756 ou 3272-1888

Prevalência das lesões intra-epiteliais escamosas em exame citológico numa determinada população de Santo Ângelo, RS*

Prevalence of squamous intraepithelial lesions in cytologic smear in a specific population of Santo Ângelo, RS

Vera R. A. Vargas; Ezequiel A. Dalla Corte; Rita G. Amaral & Honório S. Menezes

RESUMO – No Brasil, o câncer cervical está entre as quatro primeiras taxas de incidência e mortalidade, representando um sério problema de saúde pública que pode ser evitado se lesões pré-cancerosas forem detectadas precocemente. Observações epidemiológicas sugerem que o HPV seja o principal fator de risco do câncer cervical. O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência das lesões por HPV em uma determinada população de Santo Ângelo, pela citologia. Foram analisados 472 exames citológicos no período de agosto de 2001 a janeiro de 2002. Desses exames, 449 (95,13%) foram negativos para malignidade, 6 (1,27%) células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US), 13 (2,75%) lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau com HPV (LSIL/HPV), 3 (0,64%) lesões intra-epiteliais escamosas de alto grau (HSIL) e 1 (0,21%) carcinoma de células escamosas. A idade média das mulheres participantes foi de 38,8 anos (18-65). A faixa etária que apresentou um pico de prevalência para LSIL/HPV foi dos 18 a 24 anos; para HSIL e carcinoma escamoso foi dos 35 aos 45 anos. A ocorrência de HPV na 2ª e 3ª década de vida está de acordo com o citado na literatura.

PALAVRAS-CHAVE – Citologia, Papilomavírus Humano, lesão intra-epitelial escamosa, coilócito.

SUMMARY – The cervix carcinoma is one of the four major rate of incidence and mortality rates in Brazil, being an important public health problem that could be avoided if cervical dysplasias were detected in early stages. Epidemiologic data suggest that HPV is the most important risk factor of cervical cancer. The objective of this study was to determine the prevalence of HPV cytologic lesions examination in a specific population of Santo Ângelo. Specimens were taken from the squamocolumnar junction and endocervix of private patients who visited their gynecologist for a routine examination and the Papanicolaou technique was used in those cytologic smears. Four hundred and seventy two cytologic smears were analysed from August 2001 to January 2002. Four hundred and forty nine smears (95.13%) were negative for malignancy; 6 (1.27%) ASCUS; 13 (2.75%) LSIL/HPV; 3 (0.64%) HSIL and 1 (0.21%) squamous carcinoma. In agreement to the literature, the peak of prevalence for LSIL with HPV was from 18 to 24 years old and for HSIL and squamous carcinoma from 35 to 45 years old.

KEYWORDS – Cytology, human papillomavirus, squamous intraepithelial lesion, koilocytotic atypia.

INTRODUÇÃO

O câncer cervical representa o segundo câncer mais comum entre as mulheres no mundo. No Brasil, o câncer de colo do útero está entre as 4 primeiras taxas de incidência e mortalidade, representando um sério problema de saúde pública que pode ser evitado se lesões pré-cancerosas forem detectadas em estágios precoces^{1,2,3,4,5}. A história natural do câncer cervical como um processo contínuo de desenvolvimento que progride desde uma neoplasia intra-epitelial cervical leve (NIC 1) para uma neoplasia mais acentuada (NIC 2 ou 3) e finalmente para invasão, tem sido base para diagnóstico, tratamento e estratégias preventivas^{1,6}.

Observações epidemiológicas sugerem que o Papilomavírus Humano (HPV) seja o principal fator de risco do câncer cervical, transmitido sexualmente, e que existem outros envolvidos no desenvolvimento do câncer cervical, tais como fatores sociais, ambientais, condições sócio-econômicas, início precoce da ativi-

dade sexual, múltiplos parceiros, fumo e higiene^{1,6,7}.

Durante os últimos 20 anos, alguns tipos de HPV foram associados a específicos tipos de cânceres. Mais de 80 tipos já foram identificados e completamente seqüenciados. Aproximadamente 30 tipos de HPV infectam o trato anogenital e são classificados como baixo e alto risco. Os principais representantes dos HPVs classificados como de baixo risco ou benignos são os tipos 6, 11, 42, 43 e 44 que não induzem contínuo crescimento com concomitante desorganização em células escamosas e estão associados com lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LSIL). Os tipos de HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68 são considerados de alto risco e estão relacionados à lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL) e carcinoma cervical. Mais de 98% das lesões intra-epiteliais escamosas (SIL) contêm o DNA do HPV, determinado por métodos de biologia molecular^{1,8,9}.

O exame preventivo do câncer do colo uterino, também conhecido pelos nomes de exame citológico de colo do útero

Recebido em 27/11/2002

Aprovado em 23/6/2003

*Curso de Especialização em Citologia, SBAC-RS, Porto Alegre, RS, Laboratório Osvaldo Cruz de Santo Ângelo, RS.

ou exame de Papanicolaou, é um procedimento não invasivo, indolor, eficaz e de baixo custo, podendo ser realizado por qualquer profissional de saúde habilitado, em qualquer local do país, sem a necessidade de infra-estrutura sofisticada. Esse exame consiste na coleta da parte externa (ectocérvice) e da parte interna (endocérvice) do colo uterino. O material é coletado com espátula de Ayre através da esfoliação da superfície do epitélio da ectocérvice. A coleta endocervical é feita com uma escova ("cytobrush"). No exame citológico, a presença de componentes escamosos da ectocérvice e glandular da endocérvice, bem preservados e bem visualizados, garante uma amostra adequada da zona de transformação^{10,11,12}.

Segundo a classificação de Bethesda – 2001, um exame citológico com resultado negativo para lesão intra-epitelial ou malignidade apresenta no esfregaço citológico células que descamam do tecido epitelial escamoso e glandular normal. Essas células são do tipo superficiais, intermediárias e profundas. As células superficiais possuem um citoplasma transparente, coram-se em azul (cianofílico) ou coram-se em vermelho (eosinofílico), geralmente são poligonais, e contêm um núcleo denso e picnótico. As células intermediárias possuem um núcleo vesicular com cromatina finamente granulosa. As células profundas possuem formato arredondado, o núcleo vesiculoso com cromatina finamente distribuída ocupando a maior parte da célula e o citoplasma é cianofílico e denso. As células do tecido epitelial glandular endocervical são alongadas ou arredondadas dependendo do ângulo sob o qual são observadas. Quando vistas por sua face lateral, as células mostram disposição em paliçada, algumas exibem em sua superfície apical, uma borda ciliada, vistas pelo pólo apical, mostram um aspecto em favo de mel. As células endometriais são observadas durante a fase menstrual e geralmente apresentam-se em aglomerados de células pequenas, com tamanho aproximado de um neutrófilo polimorfonuclear^{14,15,16}.

Na cérvice uterina, ocorre um processo fisiológico chamado de metaplasia escamosa. Sob influência de estímulo externo, as células de reserva da endocérvice amadurecem em células escamosas, em vez de células glandulares endocervicais. Essas células exibem um aspecto irregular, alongado, formas arredondadas ou poligonais com contornos bem marcados. Os núcleos são arredondados ou ovais situados no centro da célula^{14,17,18}.

A citologia tem papel importante no reconhecimento das alterações inflamatórias, permitindo avaliar a intensidade dessas alterações e, em certos casos, determinar a natureza do agente causal. As células escamo-

sas com mudanças reativas inflamatórias mostram alterações de núcleo e citoplasma de natureza benigna.

Um exame citológico com células epiteliais escamosas anormais pode apresentar células escamosas atípicas. Essas células escamosas apresentam anormalidades celulares mais acentuadas que mudanças reativas ou inflamatórias, mas menos que as necessárias para um diagnóstico definitivo de lesão intra-epitelial escamosa. Quando as alterações das células escamosas são de significado indeterminado, classifica-se como ASC-US, e ASC-H quando as alterações dessas células não excluem lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL)^{11,19,20}.

As alterações que caracterizam uma lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau com HPV (LSIL/HPV), apresentam efeitos morfológicos celulares que são característicos da presença do vírus na célula. A infecção pelo vírus HPV ocorre, primeiramente, nas camadas mais profundas do tecido epitelial da cérvice uterina, em decorrência de microlesões nesse epitélio. A maioria das doenças da cérvice, associada ao HPV, localiza-se na junção escamo-colunar do epitélio ou zona de transformação (ZT), onde as células proliferativas estão mais expostas. O primeiro aspecto citológico da manifestação da infecção por HPV, na diferenciação terminal das células epiteliais, é a "coilocitose", disqueratose, binucleação e multinucleação. Isso é o resultado do ciclo de vida normal do vírus que não interfere no amadurecimento epitelial. O processo acontece na diferenciação terminal das células que não são capazes de se dividirem (Fig. 1 A)^{13,17}.

O termo "coilocito", derivado da palavra grega *Koilos* (*hollow* ou *cavidade*), é usado para descrever células escamosas intermediárias que apresentam um grande vacúolo citoplasmático ao redor de um núcleo anormal. O vacúolo perinuclear representa uma área de necrose citoplasmática. O citoplasma periférico ao vacúolo é condensado, apresentando os filamentos citoplasmáticos na periferia da área de necrose, explicando a condensação citoplasmática demarcada da zona perinuclear (Fig. 1 B)^{14,15,16,18}.

A infecção pelo HPV pode também apresentar agrupamentos de pequenas células escamosas com núcleo picnótico, derivadas da camada de células superficiais queratinizadas que são denominadas de disqueratóticas¹⁴.

O segundo efeito citopático é uma anormalidade no crescimento e diferenciação celular que tem sua origem na replicação das células da camada basal que originam o epitélio. Esse fenômeno produz distúrbios morfológicos em todas as camadas do epitélio e apresenta células de tamanho menor do que as vistas em lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (Fig. 2 A e B)¹³. Essas alte-

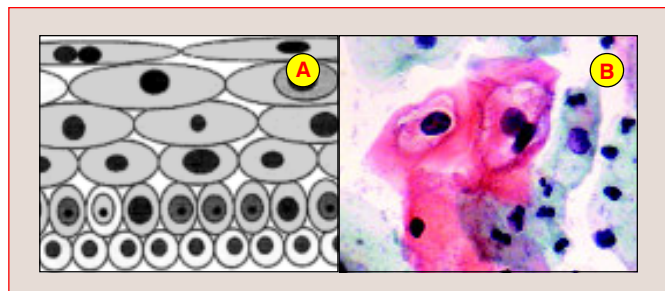


FIG. 1 – A: esquema da diferenciação terminal apresentando o primeiro aspecto citopático da manifestação da infecção pelo HPV (adaptado da referência 13) e B: células escamosas apresentando efeito citopático compatível com HPV.

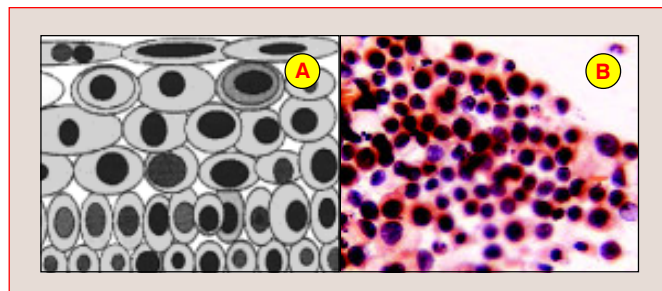


FIG. 2 – A: esquema da evolução dos distúrbios morfológicos em todas as camadas do epitélio, dando origem à lesão pré-cancerosa (adaptado da referência 13) e B: células escamosas de uma lesão intra-epitelial escamosa de alto grau.

rações celulares têm sido encontradas associadas com lesões intra-epiteliais escamosas de alto grau e carcinoma cervical¹⁷.

Na lesão intra-epitelial escamosa de alto grau, as células, geralmente, aparecem isoladas, em grupos ou em agregados tipo sincício. Apresentam anormalidades nucleares com citoplasma metaplásico delicado ou denso "imaturo", ocasionalmente o citoplasma é "maturo" e densamente queratinizado. O aumento nuclear é do tipo visto no LSIL, mas a área citoplasmática está diminuída, levando a um aumento na relação núcleo/citoplasma. Geralmente nucléolos estão ausentes e as membranas nucleares são irregulares^{11,17}.

No carcinoma de células escamosas, as alterações citológicas dependem do grau de diferenciação que pode ser queratinizado e não queratinizado. O Sistema Bethesda não subdivide os carcinomas de células escamosas. As células apresentam todas as características do HSIL além de conterem proeminentes macronúcleos, distribuição irregular da cromatina com grânulos grosseiros e espaços vazios. Macronúcleolos podem ser múltiplos e bem evidentes. Díatese tumoral, frequentemente, está presente^{11,14,15,16,18}.

Mudanças citológicas em células glandulares endocervicais ou endometriais que excedem as mudanças reativas, mas faltando características diagnósticas de adenocarcinoma, são denominadas células glandulares atípicas de significado indeterminado (AG) e células glandulares atípicas provavelmente neoplásicas (AG - provavelmente neoplásicas), quando as alterações dessas células não excluem uma provável neoplasia²⁰.

Os critérios citológicos que as células glandulares atípicas exibem são diminuição na quantidade de citoplasma, membranas nucleares irregulares e células atípicas isoladas. As células glandulares atípicas provavelmente neoplásicas exibem critérios citológicos semelhantes aos definidos para adenocarcinoma *in situ* (AIS), mas não completos^{11,21,22}.

O adenocarcinoma *in situ* (AIS) apresenta numerosas células glandulares apinhadas em lençóis e grupos com sobreposição de núcleos e o padrão endocervical típico em favo de mel, é perdido. O adenocarcinoma endocervical apresenta critérios como: descamação isolada ou em grupos com formações em rosetas, núcleos de forma e tamanho variável, cromatina granular com distribuição irregular, macronúcleolos e díatese tumoral^{11,21,22}.

Durante anos, o exame de Papanicolaou tem provado ser o mais bem-sucedido método de detecção disponível. Infelizmente nenhum teste ou interpretação é perfeito, existindo problemas que incluem desde a amostragem, interpretação até o acompanhamento. A ausência de elementos da ectocérvice e endocérvice nos esfregaços citológicos constitui-se em uma limitação importante para o exame de Papanicolaou. Vários estudos têm mostrado a importância da composição celular da amostra para um diagnóstico citológico confiável^{12,23,24}.

O objetivo desse trabalho foi determinar a prevalência das lesões intra-epiteliais escamosas, por meio do exame citológico, em uma determinada população de Santo Ângelo.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram obtidas de mulheres, que espontaneamente, procuraram seus ginecologistas para consulta de rotina e assinaram um termo de consen-

imento livre e esclarecido. Elas foram submetidas à coleta de exame citológico como parte da rotina diagnóstica do médico. O material citológico foi coletado, da ectocérvice, com espátula de Ayre e da endocérvice, com escova (*cytobrush*), estendido em lâmina de vidro, fixado com propilenoglicol (fixador citológico) e corado pela técnica de coloração de Papanicolaou¹⁴. As amostras foram examinadas, no setor de citologia do Laboratório Osvaldo Cruz de Santo Ângelo - RS, por profissionais especialistas, e os resultados foram classificados conforme o Sistema Bethesda de 2001²⁰.

As variáveis estudadas foram: negativo para malignidade (dentro dos limites da normalidade e alterações celulares benignas); células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US); células escamosas atípicas, não inclui lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (ASC-H); células glandulares atípicas (AG) e células glandulares atípicas provavelmente neoplásicas (AG - provavelmente neoplásicas); lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau com HPV (LSIL/HPV); lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL); carcinoma de células escamosas e adenocarcinoma.

O HPV foi sugerido pelo exame de citologia por meio das modificações morfológicas produzidas pelo vírus na célula. As alterações citológicas atribuídas ao vírus são "coilocitose", disqueratose, binucleação e multinucleação.

Para análise estatística das variáveis, foi aplicado o teste qui-quadrado e foram consideradas significativas as variáveis com intervalo de confiança de 95% (alfa menor que 0,05).

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Cardiologia/Fundação Universitária de Cardiologia (IC-FUC) de Porto Alegre - RS, Brasil.

RESULTADOS

Durante o período de estudo, 2.678 exames citológicos foram interpretados e classificados conforme o Sistema Bethesda. Depois de aplicados os critérios de exclusão, permaneceram no estudo 472 mulheres. A maioria delas, 449 (95,13%), teve resultados citológicos negativos para lesões intra-epiteliais escamosas ou malignidade, distribuídos em 187 (39,62%) dentro dos limites da normalidade e 262 (55,51%) com mudanças reativas. As pacientes que apresentaram resultados citológicos alterados, 23 (4,87%), ficaram distribuídas em 6 (1,27%) com células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US), 13 (2,75%) com lesão intra-epitelial de baixo grau com HPV (LSIL/HPV), 3 (0,64%) com lesão intra-epitelial de alto grau (HSIL) e 1 (0,21%) com carcinoma de células escamosas (Tab. I).

TABELA I
Resultados citológicos

	n	%
Dentro dos limites da normalidade	187	39,62
Mudanças reativas	262	55,51
ASC-US	6	1,27
LSIL/HPV	13	2,75
HSIL	3	0,64
Carcinoma de células escamosas	1	0,21
Total	472	

Abreviações: ASC-US - Células escamosas atípicas de significado indeterminado; LSIL/HPV - Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau com HPV; HSIL - Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau.

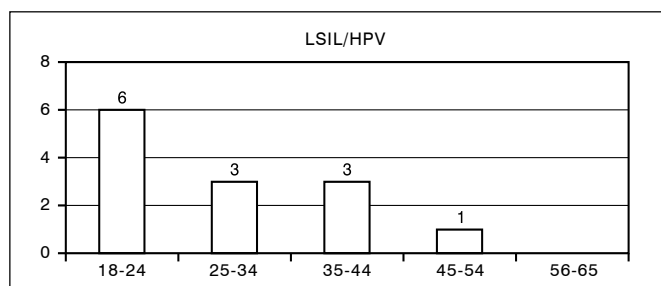


FIG. 3 - Distribuição de LSIL/HPV por faixa etária.

A média de idade das participantes foi de 38,8 anos de idade, variando entre 18 e 65 anos. O Papilomavírus Humano (HPV) foi identificado pela citologia em mulheres de idade entre 18 e 54 anos, sendo constatado que a faixa etária das mulheres que apresentaram um pico de prevalência para lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau com HPV (LSIL/HPV) foi de 18 a 24 anos (Fig. 3); para HSIL e carcinoma de células escamosas foi de 35 a 44 anos (Tab. II).

DISCUSSÃO

No presente estudo, participaram pacientes de convênios privados e particulares, na faixa etária de 18 a 65 anos e utilizou-se apenas o método citológico convencional para sugerir os diagnósticos das lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau com HPV, lesões intra-epiteliais escamosas de alto grau e carcinoma escamoso. Na literatura pesquisada, os autores avaliaram mulheres na faixa etária de 35 a 65 anos que, apresentando resultados citológicos alterados, foram encaminhadas para biópsia dirigida por colposcopia ou para pesquisa de DNA do HPV.

No presente trabalho (n=472) foram observadas em torno de 95% das citologias com resultados negativos para malignidade e 5% foram relatadas como anormais, 449 (95,13%) apresentaram resultado negativo para células malignas, sendo 187 (39,62%) citologias dentro dos limites da normalidade e 262 (55,51%) com mudanças reativas, 6 (1,27%) com ASCUS, 13 (2,27%) com LSIL com HPV, 03 (0,64%) com HSIL e 01 (0,21%) com carcinoma de células escamosas.

Os resultados foram similares ao estudo de Wright T.C. *et al.*, que avaliou 1.415 mulheres africanas de idade entre 35 e 65 anos, utilizando o exame de Papanicolaou e teste do DNA do HPV, em que 15 (1,06%) das amostras foram insatisfatórias, 1.174 (83,0%) tiveram resultados citológicos dentro dos limites da normalidade, 131 (9,26%) com ASCUS, 49 (3,46%) com lesão intra-epitelial de baixo grau (LSIL), 42 (2,97%) com lesão intra-epitelial de alto grau (HSIL) e 4 (0,28%) com câncer²⁵.

Também estão em concordância com o estudo de Denny *et al.*, que após o rastreamento citológico de 2.944 mulheres africanas, na faixa etária de 35 a 65 anos, foram encaminhadas para colposcopia e biópsia, mulheres com exames citológicos alterados, apresentando 84,8% dentro dos limites da normalidade; 7,0% com ASCUS; 5,3% com LSIL; 2,7% com HSIL e 0,1% com carcinoma escamoso²⁶.

Os resultados do presente trabalho são compatíveis com os encontrados por Manos *et al.*, realizado com

TABELA II
Resultados citológicos por faixa etária

	18-24 (%)	25-34 (%)	35-44 (%)	45-54 (%)	55-65 (%)
Negativo para malignidade	59 (89,39)	131 (95,62)	130 (94,21)	82 (97,62)	47 (100)
ASC-US	1 (1,52)	3 (2,19)	2 (1,45)	0	0
LSIL/HPV	6 (9,09)	3 (2,19)	3 (2,17)	1 (1,19)	0
HSIL	0	0	2 (1,45)	1 (1,19)	0
Carcinoma de células escamosas	0	0	1 (0,72)	0	0
Total	66	137	138	84	47

Abreviações: ASC-US - Células escamosas atípicas de significado indeterminado; LSIL/HPV - Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau com HPV; HSIL - Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau.

46.009 mulheres americanas, sendo que 973 (2,11%) mulheres que apresentaram resultados citológicos para ASCUS no exame de Papanicolaou e foram encaminhadas para histologia e citologia de repetição. Destas, 783 (80,4%) ficaram dentro dos limites da normalidade; 125 (12,8%) com lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau, 64 (6,7%) com lesão intra-epitelial de alto grau e 1 (0,1%) com câncer. Os exames citológicos foram repetidos de 957 mulheres, e apenas 279 (29,2%) confirmaram resultado positivo para ASCUS; 16 (1,7%) com AGUS; 54 (5,6%) com LSIL; 23 (2,4%) com HSIL e 585 (61,1%) ficaram dentro dos limites da normalidade²⁷.

Para autores como Gusberg e Makay, a faixa etária do câncer cervical é de 45 a 55 anos, média de 48 anos e a fase de lesão de alto grau ocorre 10 anos antes²⁸. No estudo de Dani e cols., que pesquisou o perfil das pacientes com estas lesões no Planalto Médio-RS, a idade média das pacientes com câncer invasor foi de 46,37 anos (20-87) e para HSIL foi de 36,86 anos (16-84)²⁹. No presente estudo, a média de idade em que ocorreram lesões de alto grau e carcinoma cervical foi de 42,25 anos.

Berlinson *et al.*, em um estudo piloto com 136 mulheres da zona rural da China, na faixa etária entre 35 e 45 anos, utilizando colposcopia e biópsia como padrão ouro, obteve um índice 8,8% de prevalência para lesão intra-epitelial escamosa de alto grau e carcinoma escamoso. Esse índice, considerado alto, é diferente do encontrado no presente estudo. Isso, provavelmente, seja pelo fato de Berlinson ter realizado seu estudo na faixa etária entre 35 e 45 anos onde se concentra o maior número de casos de câncer³⁰.

Segundo os autores Bibbo e Morais Filho, a presença de lesões intra-epiteliais escamosas com HPV ocorrem em pacientes jovens, atingindo pico entre os 20 e 24 anos, o que é semelhante aos resultados desse estudo, em que o pico de prevalência para lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau com HPV foi de 18 a 24 anos, estando de acordo com a prevalência da lesão na população em geral. Mas, diferente dos resultados de Dani e cols., que encontrou para LSIL idade média de 31, 35 anos¹⁷.

Programas de rastreamento organizados, em países desenvolvidos, têm tido sucesso na diminuição das taxas

de incidência e mortalidade por carcinoma cervical. Nos países em desenvolvimento, tais programas carecem de maior cobertura, pois não são acessíveis a todas as mulheres e falta aceitação por parte delas. A condição sócio-econômica e nível de educação das mulheres envolvidas nesses programas também é um fator de risco para o desenvolvimento do câncer cervical.

A história natural do câncer cervical mostra uma evolução das lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau (LSIL) para lesões intra-epiteliais escamosas de alto grau (HSIL) e câncer invasor, sendo que as pacientes jovens portadoras de lesões e pacientes mais velhas, que não tem cobertura nos programas de rastreamento, formam um grupo de risco para o desenvolvimento de câncer cervical. No nosso estudo não observamos esta evolução porque as pacientes estudadas possuem uma boa condição sócio-econômica com acesso aos exames de prevenção, com intervalo de um ano entre os exames.

CONCLUSÃO

Considerando os resultados deste trabalho, em que foram incluídas 472 mulheres de convênios privados e particulares da cidade de Santo Ângelo, concluímos que:

- *Embora a história natural do câncer cervical mostre uma evolução das lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau (LSIL) para lesões intra-epiteliais de alto grau (HSIL) e carcinoma invasor, as campanhas de prevenção do câncer do colo uterino do Ministério da Saúde incluem apenas as mulheres entre 35 a 49 anos, excluindo as mais jovens que formam um grupo de risco para o desenvolvimento do câncer cervical.*
- *O presente estudo demonstrou que a maior prevalência para lesão intra-epitelial de baixo grau com HPV (LSIL/HPV) ocorreu abaixo dos 24 anos, na faixa etária de 18 a 24 anos e as lesões intra-epiteliais de alto grau (HSIL) e carcinoma cervical invasor ocorreram 10 anos mais tarde, aparecendo entre 35 e 44 anos, com média de 42,25 anos.*
- *As alterações do tipo ASCUS foram detectadas entre 18 e 44 anos, ocorrendo em três faixas etárias pesquisadas.*
- *A análise dos resultados obtidos neste trabalho permitirá às autoridades sanitárias locais o desenvolvimento de programas de rastreamento de lesões pré-cancerosas e prevenção do câncer cervical.*

REFERÊNCIAS

1. Franco, E. L.; Duarte-Franco, E.; Ferenczy, J. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ*. 164:1017-25, 2001.
2. Instituto Nacional do Câncer - Ministério da Saúde. Inca prevê mais de 300 mil casos novos de câncer em 2001. Disponível em: <http://www.inca.org.br/> Acesso em 20 Jun 2001.
3. Bosch, F. X.; Manos, M. M.; Muñoz, N.; Sherman, M.; Jansen, A. M.; Peto, J.; Schiffman, M. H.; Moreno, V.; Kurman, R.; Shah, K. V. International Biological Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group. Prevalence of Human Papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J. Natl. Cancer Inst.* 87:796-802, 1995.

4. Rock, C. L.; Michael, C. W.; Reynolds, R. K.; Ruffin, M. T. Prevention of cervix cancer. *Critical Review in Oncology/Hematology*. 33:169-185, 2000.
5. Jacobs, M. V.; Zielinski, D.; Meijer, C. J. L. M.; Pol, R. P.; Voorhorst, F. J.; Schipper, F. A.; Runsink AP; Snijders PJF and Walboomers. A simplified and reliable HPV testing of archival Papanicolaou-stained cervical smears: application to cervical smears from cancer patients starting with cytologically normal smears. *Br. J. of Cancer*. 82:1421-1426, 2000.
6. Goodman, A. A. Role of routine human papillomavirus subtyping in cervical screening. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 12:11-14, 2000.
7. Adam, E.; Berkova, Z.; Daxnerova, Z.; Icenogle, J.; Reeves, W. C.; Kaufman, R. H. Papillomavirus detection: demographic and behavioral characteristics influencing the identification of cervical disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 182:257-264, February 2000.
8. Nöbbenhuis, M. A. E.; Walboomers, J. M. M.; Helmerhorst, T. J. M.; Meijer, C. J. L. M. et al. Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. *Lancet*. 354:20-25, 1999.
9. zur Hausen H. Papillomavirus infections – a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta*. 1288:55-78, 1996.
10. Instituto Nacional do Câncer - Ministério da Saúde. Câncer do colo do útero. Disponível em: <http://www.inca.org.br/cancer/tipos/utero.html>. Acesso em 7 Janeiro 2002.
11. Kurman, R. J.; Solomon, D. O Sistema Bethesda para o relato diagnóstico citológico cervicovaginal. *Revinter*. Rio de Janeiro. 1997.
12. Luzzatto, R.; Portugal, J. L.; Silva, R. et al. Contribuição da escova endocervical para a acuidade do teste de Papanicolaou: estudo em 26.519 pacientes. *AMRIGS*. 37:3-6, 1993.
13. Crum, C. P. Contemporary theories of cervical carcinogenesis: the virus, the host, and the stem cell. *Mod. Pathol.* 13:243-251, 2000.
14. Gompel, C.; Koss, L. G. *Citopatologia ginecológica e suas bases anatômicas*. São Paulo: Manole, 1997.
15. Mackee, G. T. *Citopatologia*. São Paulo: Artes Médicas. 1997.
16. Schneider, M. L.; Schneider, V. Atlas de diagnóstico em citologia ginecológica. *Revinter*. Rio de Janeiro. 1998.
17. Bibbo, M.; Silva Filho, A. M. Lesões relacionadas à infecção por HPV no trato anogenital. *Revinter*. Rio de Janeiro. 1998.
18. DeMay, R. M. *Practical principles of cytopathology*. ASCP Press. Chicago, United States, 1999.
19. National Cancer Institute Workshop. The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytological diagnoses. *JAMA*. 262:931-934, 1989.
20. National Cancer Institute Workshop. Bethesda 2001 Workshop. Disponível em <http://www.Bethesda2001.cancer.gov> Acesso em 7 Dez 2001.
21. Kurman, R. J.; Henson, D. E.; Herbst, A. L.; Noller, K. L.; Schiffman, M. H. 1992 National Cancer Institute Workshop. Interim guidelines for management of abnormal cervical cytology. *JAMA*. Vol. 271, Nº 23:1866-1869, 15 June 1994.
22. Ronnett, B. M.; Manos, M. M.; Ransley, J. E.; Fetterman, B. J.; Kinney, L. B.; Ngai, J. S.; Kurman, R. J. and Sherman, M. E. Atypical glandular cells of undetermined significance (AGUS): cytopathologic features, histopathologic results, and human papillomavirus DNA detection. *Human Pathol.* 30:816-825, 1999.
23. Klinkhamer, P. J. J.; Vooijs, G. P.; Haan, A. F. J. Intraobserver and interobserver variability in the quality assessment of cervical smears. *Acta Cytologica*. 33:215-218, 1989.
24. Stoler, M. H.; Schiffman, M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations. Realistic estimates from the ASCUS-LSIL triage study. *JAMA*. 285: 1500-1505, 2001.
25. Wright, T. C.; Denny, L.; Kuhn, L.; Pollack, A.; Lorincz, A. HPV DNA Testing of self-collected vaginal samples compared with cytologic screening to detect cervical cancer. *JAMA*. 283:81-86, 5 Jan 2000.
26. Denny, L.; Kuhn, L.; Pollack, A.; Wainwright, H.; Wright, T. C. Evaluation of alternative methods of cervical cancer screening for resource-poor settings. *Cancer*. 89:826-833, 2000.
27. Manos, M. M.; Kinney, W. K.; Hurley, L. B.; Scherman, M. E.; Kurman, R. J. et al. Identifying women with cervical neoplasia using Human Papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results. *JAMA*. 281:1605-1610, 1999.
28. Dani, L.; Lachno, M.; Grazziotin, R. Z.; Rodriguez, R. Perfil etário das pacientes acometidas por lesões intra-epiteliais escamosas e câncer de colo uterino na região do Planalto Médio – RS. *AMRIGS*. 44:47-49, 2000.
29. Carvalho, J. P. Câncer do colo uterino: Quadro clínico e diagnóstico. In: Halbe, H. W. *Tratado de Ginecologia*. 2ª ed. São Paulo: Rocca, 1995.
30. Belinson, J.; Qiao, Y.; Pretorius, R.; Zhang, W.; Keaton, K.; Elson, P.; Fiscer, C.; Lorincz, A.; Zahniser, D.; Wilbur, D.; Pan, Q.; Li, Q.; Biscott, C.; Dawson, A.; Li, A.; Wu, L.; Ling, Y.; Ma, C. P.; Yang, X. P. Prevalence of cervical cancer and feasibility of screening in rural China: a pilot study for the Shanxi Province cervical cancer screening study. *Int. J. Gynecol. Cancer*. 9:411-417, 1999.

Endereço para correspondência

Profª Vera Regina Andrade Vargas

Rua XV de Novembro, 1.068 - conj. 101 - Centro - 98800-000 - Santo Ângelo, RS
E-mail: veravargas@pro.via-rs.com.br

Enteroparasitoses em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) atendidos no Hospital das Clínicas da UFPE*

Enteroparasitosis in infected patients with human immunodeficiency virus attended in the UFPE Clinical Hospital, Brazil

Carlos Arcoverde¹; Vera Magalhães²; Roberto Andrade Lima³; Cleide Miranda⁴; Ivan Guedes⁵; Márcia Pascoal⁶ & Maria Natalice Lemos⁷

RESUMO – Objetivo: Verificar a etiologia parasitária da diarreia em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), atendidos no HC-UFPE. **Pacientes e Métodos:** Foram estudados 110 pacientes infectados pelo HIV, com ou sem diarreia, no período de março de 1999 a março de 2000. Utilizou-se uma avaliação clínico-epidemiológica e técnicas coproparasitológicas para o diagnóstico de enteroparasitas, que incluíram os métodos de Ritchie, Rugai, Kinyoun modificado e Tricomo modificado. **Resultados e Conclusões:** Do total de 110 pacientes estudados, 81 (73,6%) apresentaram diarreia e 29 (26,4%) não tinham essa manifestação. Foram diagnosticados enteroparasitas em 63 (57,3%) pacientes, sendo 52 (82,5%) destes no grupo dos diarreicos e 11 (17,5%) naqueles sem esse sintoma. Os principais enteroparasitas encontrados foram em ordem decrescente de frequência: *Cryptosporidium parvum*, 24 (21,8%), *Blastocystis hominis*, 9 (8,2%), *Cyclospora cayetanensis*, 8 (7,3%), *Microsporidium* sp. 7 (6,4%) e *Isospora belli*, 4 (3,6%). O *C. parvum* foi o parasita mais frequentemente observado, sendo a única espécie de parasita que apresentou diferença significativa ($p < 0,019$) quando comparado aos grupos diarreico e não-diarreico. A diarreia grave (> 15 evacuações diárias) foi observada em 16 (76,2%) dos pacientes parasitados por *C. parvum* e em 3 (75%) dos infectados por *I. belli*.

PALAVRAS-CHAVE – Enteroparasitoses, vírus da imunodeficiência humana.

SUMMARY – Objective: In order to verify the parasitic etiology of diarrhea in infected patients with the human immunodeficiency virus (HIV) attended in HC-UFPE, Brazil. **Patients and Methods:** 110 patients infected by the HIV with or without diarrhea were examined in the period from March 1999 to March 2000. Clinic-epidemic evaluation and laboratory research methods to identify enteroparasites in stool such as: Ritchie, Rugai, Kinyoun modified and Tricome modified. **Results and Conclusion:** From 110 patients studied, 81 (73.6%) had diarrhea and 29 (26.4%) didn't have. It was diagnosed enteroparasitosis in 63 (57.3%) patients, 52 (82.5%) of them in the group that had diarrhea and 11 (17.5%) in the group without this symptom. The main enteroparasitosis found were in the decreasing order frequency: *Cryptosporidium parvum* 24 (21.8%), *Blastocystis hominis* 9 (8.2%), *Cyclospora cayetanensis* 8 (7.3%), *Microsporidium* sp. 7 (6.4%) and *Isospora belli* 4 (3.6%). The *C. parvum* was the most frequent observed and it was the only parasite that showed significant difference ($p < 0,019$) when compared among groups with or without diarrhea. Severe diarrhea (> 15 evacuation/day) was observed in 16 (76.2%) parasited by *C. parvum* and 3 (75%) parasited by *I. belli*.

KEYWORDS – Enteroparasitosis, human immunodeficiency virus.

INTRODUÇÃO

A infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) determina uma série de alterações imunológicas na mucosa gastrointestinal que suprimem os mecanismos inespecíficos de defesa dos hospedeiros, predispondo a ocorrência de inúmeras alterações fisiopatológicas do aparelho digestivo¹⁴.

A diarreia é a mais comum manifestação intestinal em pacientes com AIDS, podendo inclusive ser a primeira manifestação da doença, ou ser uma complicação tardia da mesma⁴, ocorrendo em aproximadamente 50% dos pacientes infectados pelo HIV nos países de-

envolvidos, atingindo até 90% dos aidéticos nos países em desenvolvimento¹⁷.

A etiologia do processo diarreico na AIDS é variável, podendo ser causada por vírus, bactérias, fungos, protozoários e helmintos⁴; assim como, o próprio HIV determina efeitos diretos sobre a mucosa intestinal, produzindo uma entidade conhecida como enteropatia da AIDS¹⁷.

Com o surgimento da AIDS muitas espécies de enteroparasitas passaram a ter importância como agentes potencialmente patogênicos para os pacientes infectados com o HIV, principalmente nos doentes com número de linfócitos T CD4⁺ menor que 200 células/mm³^{15,20,40,43}. A

Recebido em 13/2/2003
Aprovado em 14/3/2003

*Trabalho realizado no Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco.

¹Prof. Adjunto de Parasitologia/DMT-UFPE; ²Prof. Adjunto de Doenças Infecciosas e Parasitárias/DMT-UFPE;

³Prof. Adjunto de Gastroenterologia/DMC-UFPE; ⁴Prof. Assistente de Microbiologia/DMT-UFPE; ⁵Estudante de Medicina/UFPE;

⁶Biomédica/DMT-UFPE; ⁷Bióloga do Hospital Regional do Agreste-Caruaru-PE

partir deste fato, observou-se uma evidente predisposição à ocorrência de infecções por protozoários de ação patogênica intracelular^{19,21,43}. No entanto, helmintos, em sua maioria, excetuando-se o *Strongyloides stercoralis*, não são considerados como agentes patogênicamente significantes em pacientes com AIDS³¹.

Dentre os protozoários que exercem parasitismo extracelular em humanos, a *Entamoeba histolytica* e *Giardia lamblia* parecem ser, segundo alguns autores, capazes de produzir diarreia crônica nos pacientes com AIDS¹⁰. No entanto, outros estudos têm demonstrado que essas espécies são menos frequentes nas causas de diarreia grave em pacientes HIV-positivos, quando comparadas com os coccídios – *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, *Isospora belli* – e os microsporídios, destes notadamente o *Enterocytozoon bienersi*^{4,16,17,22}.

Outros protozoas como *Blastocystis hominis* e *Dientamoeba fragilis* vêm sendo incriminados, por alguns autores, como agentes capazes de causar diarreia, tanto em pacientes imunocompetentes como em imunocomprometidos^{9,17,26}.

No Brasil, vários estudos têm demonstrado uma ampla distribuição do *C. parvum* em todas as regiões do país, apresentando-se com índices variáveis de ocorrência, alguns acima de 19% para crianças com diarreia e indivíduos com AIDS³⁸; sendo esse parasita reconhecida possuidor de elevado potencial diarreio gênico^{16,39}.

A *C. cayetanensis* é um agente coccidiano que possui acentuada semelhança morfológica com o *C. parvum*, sendo já há algum tempo identificada como um enteropatógeno capaz de produzir diarreia em aidéticos^{22,27}. Outro coccídio, a *I. belli*, apesar da sua relativa baixa frequência na população em geral, parece ser um parasita de caráter oportunista importante, quando acomete pacientes com AIDS^{7,37}.

Os microsporídios são protozoários intracelulares obrigatórios capazes de produzir em pacientes HIV-positivos com baixos níveis de linfócitos T CD4⁺, enterites de considerável gravidade^{12,16,39}.

O diagnóstico coproparasitológico de parasitas que acometem pacientes HIV-positivos é de fácil execução prática e de baixo custo, tornando-se viável em qualquer unidade laboratorial, mesmo nos países em desenvolvimento e, ainda, considerado método padrão ouro, apesar dos avanços das técnicas em imunodiagnóstico⁸.

Diante da importância do sintoma diarreico nos pacientes infectados com o HIV e da existência no estado de Pernambuco de poucas publicações em literatura especializada que avaliem a etiologia da diarreia na AIDS, resolveu-se realizar o presente estudo, a fim de verificar a frequência de enteroparasitoses em pacientes HIV-positivos, atendidos no Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, observando-se as principais manifestações clínicas apresentadas por esses pacientes.

PACIENTES E MÉTODOS

Casística

Foram avaliados prospectivamente 110 pacientes, atendidos de março de 1999 até março de 2000, no ambulatório ou internados na enfermaria do Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, todos com sorologia positiva para o HIV.

Os pacientes foram informados sobre a pesquisa, e os que aceitaram participar assinaram um termo de consentimento pós-informação. Em seguida, foram divididos em dois grupos, um com diarreia, e outro sem diarreia, sendo esta definida como duas evacuações líquidas consecutivas, ou um aumento substancial da frequência dos movimentos intestinais diários, comparado com o hábito normal do paciente^{17,28}.

Foram obtidas duas amostras fecais de cada paciente, coletadas em intervalos de três dias. Os espécimes fecais foram enviados, com a maior brevidade possível, ao Laboratório de Parasitologia do Departamento de Medicina Tropical da UFPE, para diagnóstico coproparasitológico e, ao Laboratório de Bacteriologia do Hospital das Clínicas/UFPE, para diagnóstico coprobacteriológico.

Avaliação clínico-epidemiológica

Foi elaborado um protocolo médico dos pacientes, constando de dados pessoais, epidemiológicos, exames coproparasitológicos e coprobacteriológicos, manifestações clínicas da doença, tratamento antiparasitário recente e características da diarreia. Dos prontuários dos pacientes foram obtidos dados relativos a contagem de linfócitos T CD4⁺/T CD8⁺ e carga viral realizada pelas técnicas de citometria de fluxo e reação em cadeia da polimerase, respectivamente.

METODOLOGIA

Identificação dos enteroparasitas

Todos os espécimes fecais de emissão recente, mais especificamente os de consistência líquida ou semilíquida, antes de serem analisados por qualquer dos métodos utilizados nesse estudo, foram enriquecidos com soro fisiológico e vistos à microscopia óptica a fim de identificar possíveis trofozoítos de *E. histolytica*, *G. lamblia*, *D. fragilis* ou estágios amebóides, granulares e vacuolares de *B. hominis*, larvas de *S. stercoralis* e ancilostomídeos ou de qualquer outra espécie de helminto encontrada⁴².

Para o diagnóstico coproparasitológico das espécies parasitárias que comumente possuem como habitat o lúmen intestinal, foi utilizado o método coproparasitológico de Ritchie (Formol-éter); especificamente para o diagnóstico do *S. stercoralis*, foi utilizado o método de Rugai, Mattos & Brisola⁴².

Para a identificação de oocistos dos coccídios foram utilizadas as técnicas de flotação de Sheather como método de concentração, seguida pela coloração imediata através do método de Kinyoun modificado^{6,12,27}.

Para identificação dos microsporídios utilizou-se uma técnica específica de coloração pelo Tricromo, modificada por Weber *et al.*⁴³, 1992 e posteriormente adaptada por Koskoskin *et al.*²⁴, 1994.

Para diagnóstico das enterobactérias foram utilizadas placas apropriadas para meios de cultura bacteriológica: Ágar-Teague, Ágar-SS e Tetratratrato.

Análise estatística

Para análise de diferenças entre frequências foram utilizados os testes do qui-quadrado (χ^2) e o de Fisher-Freedman-Halton (FFH). Para rejeitar a hipótese de nulidade, $p < 0,05$ foi considerado significativo.

RESULTADOS

Dos 110 pacientes que participaram do estudo, a idade variou entre 18 e 66 anos, com uma média de 31 anos. Destes, 65 (59,1%) encontravam-se no estágio da Síndrome completamente desenvolvida (AIDS). A caracterização da amostra dos grupos de pacientes segundo sexo, idade e classificação do estadiamento clínico da doença, baseado em critérios do Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos, encontra-se exposta na Tab. I.

Os grupos compostos por pacientes diarreicos e não-diarreicos, na Tab. I, diferem estatisticamente quanto à distribuição das categorias do estadiamento clínico do CDC ($\chi^2_{291} = 54,95, p < 0,001$).

Dos pacientes avaliados, 81 (73,6%) apresentaram-se com diarreia e 29 (26,4%) sem essa manifestação. Entero-

parasitas foram diagnosticados em 63 (57,3%) pacientes, sendo 52 (82,5%) destes no grupo dos diarreicos e 11 (17,5%) nos sem esse sintoma (Tabela II e Gráfico I).

Pode-se verificar que a distribuição de frequência das várias espécies entre os grupos diarreico e não-diarreico diferem significativamente pelo teste de Fisher-Freedman-Halton ($p < 0,001$). É possível observar ainda que tal diferencial estatístico deve-se notadamente à ocorrência do coccídio *C. parvum* ($p = 0,019$).

O *C. parvum* foi a espécie de parasita mais frequente entre os pacientes com contagem células linfocíticas T CD4⁺ menor que 200 cels/mm³, ocorrendo em 19 (29,2%) dos pacientes (Tabela III).

Do total de pacientes diarreicos e infectados por enteroparasitas, diversas manifestações clínicas estiveram diretamente relacionadas à gravidade desse sintoma (Tabela IV).

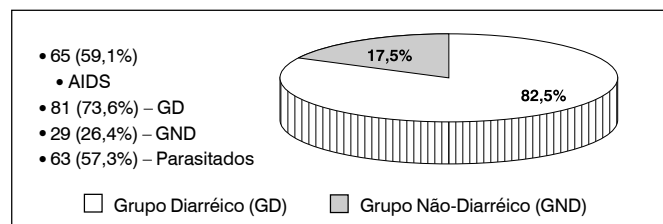
TABELA I

Características quanto ao sexo; idade e estadiamento clínico do CDC* em 110 pacientes infectados pelo HIV**, HC-UFPE, mar-1999/mar-2000, Recife-PE

Características	Com diarreia	%	Sem diarreia	%
Sexo	Masculino	57	22	75,9
	Feminino	24	07	24,1
Idade (X ± S)	30,5 ± 8,4		32,4 ± 8,9	
Class. do CDC*	A	7	22	75,9
	B	11	5	17,2
Categorias	C	63	2	6,9

*Centro de Controle e Prevenção de Doenças (EUA).

**Vírus da imunodeficiência humana.



GRÁF. 1 - Caracterização da população.

TABELA III

Distribuição de parasitas em 110 pacientes infectados pelo HIV*, relacionada à contagem de linfócitos T CD4⁺, HC-UFPE, mar-1999/mar-2000, Recife-PE

Parasitados com	Níveis de linfócitos T CD4 ⁺ mm ³					
	<200	%	200-499	%	≥500	%
<i>Cryptosporidium parvum</i>	19	29,2	2	8,7	2	9,1
<i>Blastocystis hominis</i>	5	7,7	1	4,3	2	9,1
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	4	6,2	1	4,3	1	4,5
Microsporídios	2	3,1	2	8,7	2	9,1
<i>Isospora belli</i>	3	4,6	1	4,3	0	0
<i>Giardia lamblia</i>	2	3,1	1	4,3	0	0
<i>Strongyloides stercoralis</i>	2	3,1	0	0	1	4,5
<i>Entamoeba histolytica</i>	1	1,5	1	4,3	1	4,5
<i>Dientamoeba fragilis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Balantidium coli</i>	1	1,5	0	0	0	0
<i>Chilomastix mesnili</i>	0	0	0	0	1	4,5
<i>Schistosoma mansoni</i>	0	0	0	0	1	4,5
Poliparasitados**	3	4,6	0	0	1	4,5
Não parasitados	23	35,4	14	60,9	10	45,5
Total	65	100	23	100	22	100

*Vírus da imunodeficiência humana.

**Dentre os casos positivos para enteroparasitas, ocorreram 4 casos de poliparasitismo: três em pacientes com CD4⁺ < 200 e um com CD4⁺ ≥ 500.

TABELA II

Ocorrência de enteroparasitas em 81 pacientes com diarreia e 29 sem diarreia, infectados pelo HIV*, HC-UFPE, mar-1999/mar-2000, Recife-PE

Pacientes com	Com diarreia	%	Sem diarreia	%
<i>Cryptosporidium parvum</i>	21	25,9	2	6,9
<i>Blastocystis hominis</i>	7 ^{a,b}	8,6	1	3,4
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	5	6,2	1	3,4
Microsporídios	3 ^b	3,7	3	10,3
<i>Isospora belli</i>	4	4,9	0	0
<i>Giardia lamblia</i>	2 ^b	2,5	1	3,4
<i>Strongyloides stercoralis</i>	2	2,5	1	3,4
<i>Entamoeba histolytica</i>	2 ^b	2,5	1	3,4
<i>Dientamoeba fragilis</i>	0	0	0	0
<i>Balantidium coli</i>	1 ^c	1,2	0	0
<i>Chilomastix mesnili</i>	1 ^b	1,2	0	0
<i>Schistosoma mansoni</i>	1 ^c	1,2	0	0
Poliparasitismo	3	3,7	1	3,4
Ausência de parasitas	29	35,8	18	62,1
Total	81	100	29	100

*Vírus da imunodeficiência humana. a - *Escherichia coli*; b - *Shigella* sp; c - *Salmonella* sp.

TABELA IV

Manifestações clínicas em 52* pacientes diarreicos com exames coproparasitológicos positivos, infectados pelo HIV**, correlacionadas com enteroparasitas, HC-UFPE, mar-1999/mar-2000, Recife-PE

Manifestações	<i>C. parvum</i>	<i>I. belli</i>	<i>C. cayetanensis</i>	Outros parasitas
Desidratação	19 (90,5%)	4 (100,0%)	6 (85,7%)	0 (0,0%)
Sem desidratação	2 (9,5%)	0 (0,0%)	1 (14,3%)	20 (90,0%)
Nº evacuações	1 - 5	0 (0,0%)	0 (0,0%)	18 (90,0%)
	6 - 10	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (10,0%)
	11 - 15	5 (23,8%)	1 (25,0%)	0 (0,0%)
	>15	16 (76,2%)	3 (75,0%)	0 (0,0%)
Consistência fecal	Líquida	20 (95,2%)	4 (100,0%)	6 (30,0%)
	Pastosa	1 (4,8%)	0 (0,0%)	13 (65,0%)
	Sanguinolenta	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (5,0%)
Dor abdominal	16 (76,2%)	4 (100,0%)	5 (71,4%)	4 (20,0%)
Sem dor abdominal	5 (23,8%)	0 (0,0%)	2 (28,6%)	16 (80,0%)

*21 infectados com *C. parvum*, 4 com *I. belli*, 7 com *C. cayetanensis* e 20 com outros parasitas.

**Vírus da imunodeficiência humana.

DISCUSSÃO

Dentre todos os enteroparasitas diagnosticados, o *C. parvum* foi o que apresentou a maior ocorrência na presente pesquisa, sendo encontrado em 24 (21,8%) dos pacientes. Quando considerada sua presença apenas no grupo dos diarreicos, foi encontrado em 21 (25,9%) pacientes, sendo também o enteropatógeno que apresentou a maior associação com o sintoma diarreico ($p=0,019$). Esta frequência pode ser considerada semelhante à da maioria dos estudos já realizados abordando a tríade: criptosporidiose/HIV/diarreia nos países em desenvolvimento, cuja ocorrência situa-se entre 20 e 50%^{32,35}. Foi constatado em São Paulo em 7%¹¹ e 12,1%¹³ e na cidade de Santos em 19,1%³⁸.

Na cidade do Recife, em dois prévios estudos realizados por Magalhães *et al.*²⁹, 1993 e por Miranda *et al.*³³, 1997, *C. parvum* foi diagnosticado em 17,6 e 17,7% respectivamente, entre pacientes HIV-positivos com ou sem diarreia. Dados estes inferiores ao apresentado na presente pesquisa. Deve-se ressaltar que nas referidas pesquisas foram utilizados os métodos de flotação de Sheather e da Safranina para diagnóstico da criptosporidiose, demonstrando superioridade da primeira técnica na identificação do parasita. Neste estudo foi utilizada a flotação de Sheather como método de concentração, seguida de coloração imediata pelo método de Kinyoun. Talvez, essa metodologia tenha facilitado a identificação dos oocistos do parasita, desde que, na técnica de Sheather, os oocistos de *C. parvum* rompem-se caso não sejam analisados rapidamente, sendo um fator limitante dessa técnica.

O encontro de uma significativa frequência do enteroparasita *C. parvum* em 19 (29,2%) dos pacientes com contagem de linfócitos T CD4⁺ abaixo de 200 cels/mm³, concorda com outros estudos que ressaltam a importância da contagem de linfócitos T CD4⁺ como o método de melhor valor preditivo de risco para o desenvolvimento de enteroinfecções oportunistas^{23,41}. Entretanto, encontraram-se no presente estudo, 5 (11,1%) casos de criptosporidiose em pacientes com linfócitos T CD4⁺ acima de 200 cels/mm³, sendo um em co-infecção com *B. hominis* num paciente poliparasitado. Uma explicação para tal fato seria a recente identificação de duas cepas de *C. parvum* geneticamente distintas e possuidoras de diferentes graus de patogenicidade^{44,45}. Uma outra possibilidade seria a da utilização frequente de anti-retrovirais pelos pacientes com AIDS, que poderiam ser os responsáveis pelo aumento de linfócitos T CD4⁺, porém sem a capacidade de erradicar a infecção, que ainda não tem tratamento específico eficaz^{7,14,20}.

O segundo enteroparasita mais frequentemente diagnosticado na população avaliada foi o *B. hominis*, sendo encontrado em 7 (8,6%) dos pacientes diarreicos, embora, alguns estudos relacionem a presença desse parasita com diarreia entre aidéticos^{18,26}. Nossa pesquisa não demonstrou existir associação estatística significativa entre *B. hominis* e diarreia ($p=0,246$), diferente de outro estudo realizado em Recife-PE por Magalhães *et al.*³⁰, 1996, onde foi demonstrado ter este parasita uma frequente relação com diarreia entre aidéticos.

A *C. cayetanensis* apesar de vir sendo apontada como um importante agente causal de diarreia crônica entre aidéticos^{22,36}, não demonstrou em nosso estudo, diferença estatisticamente significativa quando analisamos a sua frequência dentro dos grupos com ou sem diarreia ($p=0,347$). Porém, nossos resultados diferem de um estudo realizado no Brasil por Araújo *et al.*⁵, 1995, que diagnosticaram um caso de ciclosporiase em um paciente HIV-

positivo que apresentava diarreia superior a três meses, apesar desse estudo não ser conclusivo pela pequena casuística.

Os microsporídios intestinais emergiram com a pandemia da AIDS, sendo inicialmente apontados como responsáveis por 30 a 50% das diarreias inexplicadas em pacientes com AIDS³⁹. Entretanto, na presente pesquisa, como em outro prévio estudo realizado em Recife por Albuquerque *et al.*², 1998, não foi detectada diferença significativa entre a infecção microsporidial e o sintoma diarreico ($p=0,146$).

Foram observados 4 (4,9%) casos de isosporíase, todos entre os 81 pacientes diarreicos. Talvez, a relativa baixa frequência de isosporíase encontrada em nosso estudo deva-se em parte à utilização frequente de cotrimoxazole e pirimetamina, drogas usadas em pacientes com AIDS para tratamento de infecções pelo *Pneumocystis carinii* e *Toxoplasma gondii*, também eficazes contra *I. belli*.

A infecção parasitária por *G. lamblia* não demonstrou em nosso estudo correlação estatística significativa com o sintoma diarreico. Nos três únicos casos em que este parasita ocorreu em pacientes diarreicos, um encontrava-se em poliparasitismo com *C. cayetanensis*, outro apresentou co-infecção com a enterobactéria *Shigella* sp. e o terceiro caso ocorreu em monoparasitismo. É relevante salientar que, em nenhum dos casos diagnosticados, o parasita foi encontrado na forma de trofozoíto, estágio evolutivo responsável pelo desenvolvimento de giardíase sintomática.

Apesar de, inicialmente, a estrongiloidíase disseminada ter sido apontada como infecção definidora de AIDS^{19,29}, o *S. stercoralis* não apresentou, em nosso estudo, diferença estatística significativa quando da sua ocorrência entre os grupos de pacientes diarreicos e não-diarreicos.

A baixa frequência de amebíase encontrada em nossos resultados, notadamente no que concerne ao grupo dos pacientes com diarreia, dois casos (2,5%), sendo um em associação com *Shigella* sp., vem corroborar estudos anteriormente realizados por outros autores, inclusive em Recife, que também não verificaram diferencial de frequência significativo entre a ocorrência dessa parasitose entre grupos de pacientes diarreicos e não-diarreicos^{1,3,29}.

Um fato curioso e raro verificado no presente estudo, foi o encontro de um paciente infectado pelo *Balantidium coli*, parasita de suínos, raramente encontrado em humanos³⁴. Apesar desse parasita ter sido a única espécie por nós encontrada em paciente com diarreia do tipo sanguinolenta, sua ocorrência em associação com *Salmonella* sp. nos faz acreditar ser esse processo disentérico produzido pela enterobactéria.

Talvez a baixa frequência ou mesmo a ausência na população estudada de enteroparasitoses, reconhecidamente endêmicas e amplamente distribuídas em nossa região, se deve ao uso indiscriminado de drogas antiparasitárias, prática comum entre indivíduos diarreicos²⁸. Entretanto, a elevada frequência de casos de AIDS em nosso meio, somada à importância que as infecções parasitárias representam nessa entidade nosológica, faz-se necessário que a investigação coproparasitológica seja uma prática médica rotineira.

CONCLUSÕES

1. A ocorrência dos principais enteroparasitas encontrados nos pacientes infectados pelo HIV, acompanhados no Hospital das Clínicas da UFPE, foi em

ordem decrescente de frequência: *C. parvum* 24 (21,8%), *B. hominis* 9 (8,2%), *C. cayetanensis*: 8 (7,3%), Microsporídios: 7 (6,4%), *I. belli*: 4 (3,6%).

2. O *C. parvum* foi o único enteroparasita que apresentou diferença de frequência significativa ($p=0,019$) entre os grupos de pacientes diarreicos e não-diarreicos. Os outros enteroparasitas não apresentaram relação estatística significativa com o sintoma diarreico.
3. Observaram-se sinais de desidratação em 19 (90,5%) dos pacientes infectados pelo *C. parvum*, em 4 (100%) dos infectados pelo *I. belli* e em 6 (85,7%) dos parasitados pelo *C. cayetanensis*. Os pacientes parasitados por outras espécies de enteroparasitas não apresentaram desidratação.
4. A diarreia grave (>15 evacuações diárias) foi observada em 16 (76,2%) dos pacientes parasitados pelo *C. parvum* e em 3 (75%) dos infectados com *I. belli*.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao Dr. Tarcísio de Oliveira Moura, Presidente da SBAC-PE, pioneiro no incentivo e valorização da Parasitologia nos eventos promovidos pela SBAC no Estado de Pernambuco, assim como, nos estados vizinhos. Agradecimentos também extensivos às Dras. Cristina Marques e Gersa Maia, respectivamente Presidentes das SBAC-PB e SBAC-RN.

REFERÊNCIAS

1. Aca, I. S.; Kobayashi, S.; Carvalho Jr., L. B.; Tateno, S.; Takeuchi, T. Prevalence and pathogenicity of *Entamoeba histolytica* in three different regions of Pernambuco, Northeast Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 36:519-524, 1994.
2. Albuquerque, Y. M. M.; Magalhães, V.; Melo, V.; Santos, A. Q.; Miranda, C.; Arcoverde, C.; Lima, R. A. Microsporidiose intestinal em pacientes HIV-positivos com ou sem diarreia. *Arq. Bras. Med.* 72:53-57, 1998.
3. Alencar, L. C. A.; Magalhães, V.; Melo, V. M.; Aca, I. S.; Magalhães, M.; Kobayashi, S. Ausência de amebíase invasiva em indivíduos homossexuais masculinos no Recife. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 29:319-322, 1996.
4. Amato-Neto, V.; Medeiros, E. A. S.; Kallás, E. G.; Levi, G. C.; Baldy, J. L. S.; Medeiros, R. S. S. Fisiopatogenia. *AIDS na prática médica*, 1ª ed. São Paulo, Ed. Savier. Cap. 4: p.27-29, 1996.
5. Araújo, A. L. T. Descrição de um caso de ciclosporoze em paciente portador de SIDA/AIDS. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia. Goiânia. *Rev. Pat. Trop. Anais*. 23:244, 1995.
6. Baxby, D.; Blundel, N.; Hart, C. A. The development and performance of a simple sensitive method for detection of *Cryptosporidium oocysts* in faeces. *J. Hyg. Camb.* 92:323-327, 1984.
7. Bellinger, R. C.; Quinn, T. Tropical diseases in the HIV-infected traveler. In: Merigan Jr., T. C.; Bartlett, J. G.; Bolognesi, D. *Textbook of AIDS Medicine*. 2ª ed. Baltimore, Ed. Williams & Wilkins. Cap. 20: p.317-337, 1999.
8. Braz, L. M. A. Aplicação da técnica de imunofluorescência indireta na detecção de anticorpos específicos do tipo IgG e IgM, contra o *Cryptosporidium parvum* no soro de indivíduos imunocompetentes e imunodeficientes (HIV). *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 39:241-244, 1997.
9. Chan, F.; Stewart, N.; Guan, M.; Robb, I.; Fuite, L.; Chan, I.; Diaz, Mitoma, F.; King MacDonald, N.; Mackenzien, A. Prevalence of *Entamoeba fragilis* a common intestinal pain in some patients. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 15:950-954, 1996.
10. Chui, D. W.; Owen, R. L. AIDS and the gut. *J. Gastroenterol Hepatol.* 9:291-303, 1994.
11. Cimerman, S.; Cimerman, B.; Lewi, D. S. Avaliação da relação entre enteroparasitoses intestinais e fatores de risco para HIV em pacientes com AIDS. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 32:181-185, 1999.
12. De Carli, G. A. Infecções oportunistas por protozoários parasitas: uma revisão sobre *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, *Isospora belli* e microsporídios. *RBAC*. 32:205-216, 2000.
13. Dias, R. M. D. S.; Pinto, W. P.; Chieffi, P. P.; Mangini, A. C. S.; Torres, D. M. G. V.; Del Bianco, R.; Ferrar, L. Enteroparasitoses em pacientes acometidos pela Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS/SIDA). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*. 48:63-67, 1988.
14. Dieterich, D. T.; Poles, M. A.; Capell, M. S.; Lew, E. A. Gastrointestinal manifestations of HIV disease. Including the peritoneum and mesentery. In: Merigan Jr., T. C.; Bartlett, J. G.; Bolognesi, D. *Textbook of AIDS Medicine*. 2ª ed. Baltimore, Ed. Williams & Wilkins. Cap. 33, p.537-543, 1999.
15. Franigan T.; Whalen, C.; Turner, J. *Cryptosporidium* infection and CD4⁺ counts. *Ann. Intern. Med.* 116:840-842, 1992.
16. Goodgame, R. W. Understanding intestinal spore-forming protozoa: *Cryptosporidium*, *Microsporidium*, *Isospora* and *Cyclospora*. *Ann. Intern. Med.* 124:429-441, 1996.
17. Hallack, K. A.; Guedes, R. F.; Horácio, E. O.; Ferreira, A. C. Abordagem da diarreia crônica no paciente com síndrome da imunodeficiência adquirida. *J. Bras. Med.* 1:49-56, 1999.
18. Hareesh, K.; Suresh, K.; Khairul, A.; Saminathan, S. Isolate resistance of *Blastocystis hominis* to metronidazole. *Trop. Med. Inst. Health*. 4:274-277, 1999.
19. Heyworth, M. F. Parasitic diseases in immunocompromised hosts: *Cryptosporidiosis*, *isporiasis* and *strongyloidiasis*. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 25:691-707, 1996.
20. Hollander, H.; Katz, M. H. HIV Infection. In: Tierney Jr., L. M.; Mphree, S. J.; Papadakis, M. A. *Current medical diagnosis & treatment*. 38ª ed. Norwalk. Ed. Appleton & Lange. Cap. 29, p.1103-1125, 1999.
21. Hunter, G.; Bagshave, A. F.; Baboo, K. S.; Luke, R.; Procin, P. Intestinal parasites in Zambian patients with AIDS. *Tras. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 86:543-545, 1992.
22. Keystone, J. S.; Kozarsky, P. *Isospora belli*, *Sarcocystis* species, *Blastocystis hominis* and *Cyclospora*. In: Mandell, G. L.; Bennett, J. E.; Dolin, R. *Mandell, Principles and practice of infectious diseases*. 5ª ed. New York. Ed. Churchill Livingstone. Cap. 273, p.2915-2920, 2000.
23. Kilb, J. M.; Saag, M. S. Natural history of HIV-1 Disease. In: Merigan Jr., T. C.; Bartlett, J. G.; Bolognesi, D. *Textbook of AIDS medicine*. 2ª ed. Baltimore. Ed. Williams & Wilkins. Cap. 4: p.123-125, 1999.
24. Koskoskin, E.; Gyorkos, T.; Camus, A. Modified technique for efficient detection of microsporidia. *J. Clin. Microbiol.* 332:1074-1075, 1994.
25. Lacerda, M. C. R. Manifestações intestinais na Síndrome da Imunodeficiência Adquirida. In: Schechter, M.; Marangoni, D. V. *Doenças infecciosas: conduta diagnóstica e terapêutica*. 2ª ed. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan. Cap. 5: p.570-609, 1998.
26. Lanuza, M. D.; Carbajal, J. A.; Villar, J.; Mir, A.; Borrás, R. Soluble-protein and antigenic heterogeneity in axenic *Blastocystis hominis* isolates: pathogenic implications. *Parasitol. Res.* 85:93-97, 1999.
27. Leventhal, R.; Cheadle, R. *Protozoa. Parasitologia médica*. 4ª ed. São Paulo. Ed. Premier. Cap. 5: p.55-92, 1997.
28. Magalhães, V.; Lima, R. A. Diagnóstico e tratamento da diarreia na AIDS. *Arq. Bras. Med.* 69:641-3, 1995.
29. Magalhães, V.; Lima, R. A.; Mello, V. M.; Magalhães, M.; Alencar, L. C. A.; Carrera, M.; Lucena, T. A. L.; Rangel, F. Enteroparasitoses em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) no Recife. *Rev. Bras. Med.* 50:439-445, 1993.
30. Magalhães, V.; Melo, V.; Albuquerque, Y.; Mirandam C.; Antasm, M. G.; Sobreira, M.; Távora, M. E. G.; Magalhães, M. *Blastocystis hominis* relacionado com diarreia na AIDS. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop. Anais*. 60:94, 1996.
31. Mahmoud, A. A. S. Intestinal nematodes – Strongyloidiasis. In: Mandell, G. L.; Bennett, J. E.; Dolin, R. M. *Principles and practice of infectious diseases*. 5ª ed. New York. Ed. Churchill Livingstone. 277:2938-2943, 2000.
32. Matos, C.; Tomas, A.; Aguiar, P. Casemore, D.; Antunes, F. Prevalence of cryptosporidiosis. In: *AIDS patients with diarrhea in Santa Maria Hospital Lisbon. Folia Parasitol.* 45:63-66, 1998.
33. Miranda, C.; Albuquerque, Y.; Arcoverde, C.; Magalhães, V.; Santos, A. Q. Ocorrência de criptosporidiose e isosporiase intestinal em pacientes infectados pelo HIV, atendidos no Hospital das Clínicas da UFPE e avaliação de três métodos laboratoriais para seu diagnóstico. *Rev. Bras. Med.* 54:916-921, 1997.
34. Neves, D. P. *Balanitidum coli*. In: Neves, D. P.; Melo, A. L.; Genaro, O.; Linardi, P. M. *Parasitologia humana*. 10ª ed. Rio de Janeiro. Ed. Atheneu. Cap. 20: p.164-165, 2000.
35. Olmos, M.; Molina, C.; Piskorz, E.; Tawil, J.; Magnanini, F.; Casiro, A.; Cahn, P.; Concetti, H.; Janeiro, M.; Gueffanid, L.; Kaufman, S. Diarrhoea and AIDS: more complex diagnostic techniques better therapeutic results. *Acta Gastroenterol. Latinoam.* 26:91-100, 1998.
36. Pape, J. W.; Verdier, R. I.; Boney, M.; Boney, J.; Johnson Jr., W. D. *Cyclospora* infection in adults infected with HIV, clinical manifestations, treatment and prophylaxis. *Ann. Intern. Med.* 121:654-657, 1994.
37. Rozman, C. Infecção por *Isospora* e *Cryptosporidium*. *Compêndio de Medicina Interna*. 1ª ed., São Paulo. Ed. Manole Ltda. Cap. 17, p.792-1003, 1999.
38. Sauda, F. C.; Zamarioli, L. A.; Ebner Filho, W.; Mello, L. B. Prevalence of *Cryptosporidium* sp. and *Isospora belli* among AIDS patients attending Santos Reference Center for AIDS. São Paulo, Brazil. *J. Parasitol.* 79:454-456, 1993.
39. Soave, R.; Didier, E. S. Intestinal Parasitic Infections: *Cryptosporidiosis* and *Microsporidiosis*. In: Merigan Jr., T. C.; Bartlett, J. G.; Bolognesi, D. *Textbook of AIDS Medicine*. 2ª ed. Baltimore, Ed. Williams & Wilkins. Cap. 21: p.327-355, 1999.
40. Tarimo, D. S.; Killewo, J. Z.; Minjas, J. N.; Msamanga, G. I. Prevalence of intestinal parasites in adult patients with enteropathic AIDS in Northeast Tanzania. *East Afr. Med. J.* 73: 397-399, 1996.
41. Taylor, J. M. G.; Sy, J. P.; Visscher, B.; Giorgi, J. V. CD4⁺ T-Cell Number at the time of Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Am. J. Epidemiol.* 141:645-651, 1995.
42. Valada, E. P. *Coprologia e parasitologia. Manual de exames de fezes*. 1ª ed. Rio de Janeiro. Ed. Atheneu. Cap. 1: p.4-89, 1997.
43. Weber, R.; Brayan, R. T.; Juranek, D. D. Improved light-microscopical detection of *Microsporidium* spores in stool and duodenal aspirates. *N. Engl. J. Med.* 326: 161-166, 1992.
44. Widmer, G.; Tchack, L.; Spano, F.; Tzipori, S. A study of *Cryptosporidium parvum*: genotypes and population structure. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 93:685-686, 1998.
45. Xiao, L.; Sulaiman, I.; Fayer, R.; Lal, A. A. Species and strain specific typing of *Cryptosporidium* parasites in clinical and environmental. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 93: 687-692, 1998.

Endereço para correspondência

Carlos Arcoverde

UFP - Hosp. das Clínicas, Bl. A, Departamento de Medicina Tropical

Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária - 50670-901

Fone/Fax: (0xx81)3271-8528 / 3454-3525

E-mail: tropmed@bol.com.br

Prevalência de infecções pelo *Strongyloides stercoralis* em uma área específica, vila dos Papeiros, na cidade de Porto Alegre, RS*

Prevalence of *Strongyloides stercoralis* infection in selected area in the slum of Papeiros in the city of Porto Alegre, RS

Daiane R. Pavelecini¹, Fernanda P. Borges¹, Rafael V. Michel¹, Renata C. M. Wiltusching, Francine G. Neves¹, Juliana F. Ribeiro¹, Tiana Tasca¹ & Geraldo A. De Carli²

RESUMO – Estudos sobre a estrongiloidíase em países em desenvolvimento são relativamente raros quando comparados aos inquéritos epidemiológicos de outros helmintos transmitidos pelo solo. Esta observação fundamenta-se na rara ocorrência de *Strongyloides stercoralis* nestes países quando comparada com a ascariíase, tricuriíase e ancilostomíase. Neste inquérito coproparasitológico as amostras fecais foram submetidas à técnica da sedimentação espontânea (Hoffman, Pons e Janer) e ao método de Baermann-Moraes. Pelos dados obtidos das 439 amostras examinadas, 67,9% (298) apresentaram resultados positivos e 32,1% (141) foram negativos para parasitos intestinais. A prevalência do *S. stercoralis* foi de 8,7% (38). Os índices de prevalência de estrongiloidíase nos habitantes da vila dos Papeiros não foram considerados altos, mas ficou claro neste estudo a importância do uso de diferentes métodos e técnicas para demonstrar a presença de *S. stercoralis* nas fezes.

PALAVRAS-CHAVE – *Strongyloides stercoralis*, estrongiloidíase, geohelminthos.

SUMMARY – Prevalence surveys for strongyloidiasis in developing countries are relatively rare compared to surveys for the other soil-transmitted helminthiasis. This may be because is rare the occurrence of *Strongyloides stercoralis* in these countries compared to ascariasis, trichuriasis and hookworm infection. In this survey the faeces samples from persons were submitted to spontaneous sedimentation technique (Hoffman, Pons and Janer) and Baermann-Moraes method. A total of 439 stools specimens was collected, 67.9% (298) was positive and 32.1% (141) was negative for soil-transmitted helminthiasis. The positive rates of *S. stercoralis* among the inhabitants were 8.7% (38). The result of this survey for strongyloidiasis in the slum of Papeiros is actually very low, but there is no doubt that the prevalence rate of *S. stercoralis* will increase if and when two different techniques are used, instead of the direct fecal smear method.

KEYWORDS – *Strongyloides stercoralis*, strongyloidiasis, soil-transmitted helminthiasis.

INTRODUÇÃO

A estrongiloidíase causada pelo *Strongyloides stercoralis* é comum em áreas tropicais e subtropicais. O *S. stercoralis* é um parasito preferencialmente humano, porém também pode infectar outros primatas, cães e gatos¹. Uma particular e importante propriedade do parasito é a habilidade de propagar-se no hospedeiro pela autoinfecção interna. A autoinfecção comumente ocorre na estrongiloidíase humana, sendo o fenômeno responsável pela longa duração da infecção e pela hiperinfecção em hospedeiros imunodeprimidos.

Estudos sobre a estrongiloidíase em países em desenvolvimento são relativamente raros quando comparados aos inquéritos epidemiológicos de outros helmintos transmitidos pelo solo. Esta observação fundamenta-se na rara ocorrência de *S. stercoralis* nestes países quando comparada com a ascariíase, tricuriíase e ancilostomíase. Em algumas regiões do mundo a estrongiloidíase tende a ser paralela às infecções dos ancilostomídeos, em relação à distribuição geográfica e à incidência; e em outras áreas a estrongiloidíase é incomum, enquanto que a ancilostomíase é prevalente.

Entretanto, em outras regiões tropicais como no Brasil e na Colômbia a estrongiloidíase é mais prevalente como doença que a ancilostomíase²³. No Brasil, os dados são variáveis de acordo com a região, havendo relatos de prevalência variando entre 15 e 82%¹⁴, com uma taxa média de 20%²⁵.

A estrongiloidíase humana, não obstante, permanece endêmica em diferentes regiões do Brasil⁹. Essas variações ocorrem em função da idade da população estudada, bem como de diferenças geográficas e socioeconômicas. As maiores taxas foram observadas nos Estados de Minas Gerais, Amapá, Goiás e Rondônia¹³.

Sabendo-se que todos os indivíduos infectados com *S. stercoralis* apresentam risco de hiperinfecção e doença disseminada, a identificação desta parasitose, que pode ter sido adquirida em um passado distante, é de importante significado clínico. As hiperinfecções pelo *S. stercoralis* são mais frequentemente diagnosticadas em pessoas com pequenas deficiências imunológicas, tais como: doença auto-imune, severa subnutrição proteica (frequentemente associada ao alcoolismo)^{3,24} e problemas hematológicos.

Os maus hábitos de higiene⁸ e o costume de pernoitar

Recebido em 09/4/2003

Aprovado em 29/1/2004

¹Laboratório de Parasitologia Clínica, Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Farmácia, (PUCRS), Porto Alegre, RS, 90619-900, Brasil.; ²Autor Correspondente (gdecarli@portoweb.com.br)

tar no solo³ aumentam o risco de infecção pelo *S. stercoralis* em indivíduos alcoólatras. A terapia imunossupressora, particularmente por glicocorticosteróides associada com algumas das condições acima descritas, como também a transplantes de órgãos, pode precipitar a hiperinfecção e a disseminação da geohelmintíase¹⁵. Chavarria (2001)⁶ descreveu que o tratamento com glicocorticóides e hiperinfecções pode ser letal. A coinfeção do vírus da imunodeficiência humana (HIV) com severa strongiloidíase é menos freqüente do que poderia ser esperada, apresentando uma significativa sobreposição na distribuição geográfica das duas doenças^{5,16}. Em contraste ao HIV, existem evidências de que a co-infecção com os vírus linfotrópico de células T humanas do tipo I (HTLV-I) pode estar associada à severa strongiloidíase diferente do que é vista em indivíduos HTLV-I soronegativos^{7,20,26}.

No Brasil, a elevada prevalência em regiões tropicais e subtropicais, a facilidade de transmissão, o caráter de cronicidade e auto-infecção, originando formas graves de hiperinfecção e disseminação, além da possibilidade de reagudização em indivíduos imunodeprimidos, evoluindo muitas vezes para óbito, torna a strongiloidíase um importante problema médico e social⁹.

Apesar do desenvolvimento de métodos imunológicos, o diagnóstico da strongiloidíase continua dependendo da identificação das larvas nas fezes e/ou no conteúdo duodenal¹². Outros procedimentos mais sensíveis são indicados como o método de Baermann-Moraes^{4,22}, cultura no papel-filtro¹⁷ e cultura em placa de ágar^{2,19}.

O objetivo deste estudo foi estabelecer e avaliar a prevalência do *S. stercoralis* na população residente na vila dos Papeleiros, situada na periferia da cidade de Porto Alegre, RS e determinar a sua possível correlação com fatores que condicionem a parasitose como: condições ambientais, hábitos de higiene, educação sanitária e descarte dos dejetos humanos.

MATERIAL E MÉTODOS

Área estudada: Durante o período de agosto de 2002 a junho de 2003, foi realizado um estudo copro-epidemiológico na população residente na vila dos Papeleiros, localizada na periferia da cidade de Porto Alegre, RS. Este conjunto de pequenas habitações independentes está localizado a uma altitude de aproximadamente 10 m, apresentando clima temperado tipo subtropical, com inverno úmido, muitas chuvas, temperatura média máxima de 37°C. O solo é arenoso e argilo-arenoso. A vila foi construída por diversos planejadores, não seguindo as mesmas regras de urbanização. Este conjunto de casebres foi implantado no perímetro urbano (situado entre a Rua Voluntários da Pátria e Avenida Castelo Branco) sendo habitado por uma população heterogênea. As casas não são padronizadas, construídas em madeira, com um ou dois cômodos (cozinha e quarto), teto simples (madeira, plástico e/ou papelão) e piso de terra batida. Os casebres não possuem latrina, e alguns são servidos pela rede municipal de água e não possuem esgoto e nem cisterna e/ou reservatório para água. Entretanto, possuem energia elétrica. Os dejetos humanos são jogados no solo ou recolhidos em buracos colocados ao lado das casas.

Existem 21 banheiros públicos comuns, em péssimas condições de conservação, para homens e mulheres.

O lixo é deixado exposto em monturos sobre o solo. As ruelas não são pavimentadas e nem calçadas e nelas ocorre grande acúmulo de lixo e água da chuva. As casas não possuem jardins e/ou hortas. Cães e gatos são vistos na vila, como também ratos grandes, os quais com freqüência atacam os moradores, principalmente as crianças. O lixo é separado e classificado nas casas dos moradores e depois estocado em galpões comunitários para a reciclagem. Esse estudo foi realizado em uma população de 439 pessoas (correspondendo a 204 famílias, com a média de 4 a 5 filhos, com um total de 260 crianças), pertencentes a um grupo etário de zero a 80 anos, todos moradores permanentes e/ou temporários desta vila. A população é constituída por catadores de papel e lixo. Quanto à cor, os habitantes são brancos, negros e mulatos de ambos os sexos e na sua maioria ($\pm 70\%$) são catadores de papel. A renda familiar varia de R\$ 200,00 a R\$ 350,00 por mês.

Coleta da amostra: Na primeira visita à vila após a motivação das crianças e dos adultos sobre os problemas de higiene e educação sanitária, através de palestras (participação de senhoras voluntárias), foram distribuídos recipientes de plástico com tampa, para a coleta das fezes e preenchidas as fichas do inquérito copro-epidemiológico. As entrevistas foram prejudicadas pela omissão de dados fornecidos pelos alcoólatras e usuários de drogas ilícitas.

Exame coprológico: Os procedimentos usados para o exame parasitológico das fezes foram: a técnica da sedimentação espontânea^{18,21} e o método de Baermann-Moraes^{4,22}. Foi examinada uma amostra de cada pessoa dentro de um período de 6 horas após a colheita.

RESULTADOS

Pelos dados observados das 439 amostras examinadas, 67,9% (298) apresentaram resultados positivos e 32,1% (141) foram negativos para parasitos intestinais. Na distribuição específica dos enteroparasitos, o maior percentual geral obtido para protozoários foi de 19,1% (84) para *Entamoeba coli* e 11,4% (50) para *Giardia lamblia* e, entre os nematóides foi de 37,4% (164), 25,0% (110) e 8,7% (38) para *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e *S. stercoralis* respectivamente. Enquanto, para os cestóides as prevalências foram de 1,3% (6) para *Taenia* spp. e 3,4% (15) para a *Hymenolepis nana*. As associações de *S. stercoralis* mais freqüentes em infecções concomitantes com outros helmintos e protozoários, foram: *A. lumbricoides* + *T. trichiura* + *S. stercoralis* com 1,6% (7), *A. lumbricoides* + *S. stercoralis* com 0,4% (2), *T. trichiura* + *S. stercoralis* com 0,7% (3) e, *A. lumbricoides* + *T. trichiura*, *S. stercoralis* + *Endolimax nana* com 0,4% (2).

A Tab. I apresenta as características das 38 (8,7%) pessoas com diagnóstico positivo para *S. stercoralis*. Os resultados obtidos na presente investigação demonstraram uma prevalência similar de *S. stercoralis* em toda a população estudada pela técnica da sedimentação espontânea e pelo método de Baermann-Moraes, não mostrando diferenças estatísticas significantes ($p > 0,05$).

TABELA I
Características das 38 pessoas com diagnóstico positivo para *S. stercoralis* residentes na vila dos Papeleiros durante o período de agosto de 2002 a junho de 2003

Características	Frequência	Porcentagem (%)
HIV+*	5	1,1
Alcoólatras**	4	0,9
Usuários de drogas ilícitas	3	0,7
Puérperas	1	0,2
Crianças (0 – 13 anos)	19	4,4
Adultos sadios	6	1,4

*Idade entre 25 e 40 anos, **Idade entre 35 e 60 anos.

DISCUSSÃO

Os resultados deste inquérito coproparasitológico mostraram que a prevalência de *S. stercoralis* na vila dos Papeleiros é realmente muito baixa quando comparada com os outros parasitos diagnosticados na mesma vila. Foi demonstrado neste estudo copro-epidemiológico que a prevalência da estrogiloidíase aumenta marcadamente quando técnicas específicas forem usadas, em lugar do exame direto a fresco¹². Os índices de infecção do *S. stercoralis* foram inferiores aos da ancilostomíase relatada em outros trabalhos realizados em diferentes vilas periféricas e/ou em assentamentos rurais no Estado do Rio Grande do Sul^{10,11}. A presença de gerações de vida livre de *Strongyloides* no solo com ausência de larvas de ancilostomídeos poderia teoricamente aumentar o número de larvas infectantes no solo. Entretanto, existem dois fatores que poderiam explicar as diferenças entre as taxas de infecção encontradas em outras investigações entre os ancilostomídeos e *S. stercoralis*^{10,11}. Provavelmente o primeiro estágio larvário (larva rabditóide) de *S. stercoralis*, nas fezes, pode não ser tão resistente quanto os ovos dos ancilostomídeos, como também as larvas de terceiro estágio (larva filarióide), no solo, poderiam ser mais sensíveis à dessecação, à excessiva umidade ou a marcadas mudanças de temperatura. Por esta razão, apresentariam um menor período de vida quando comparadas com as larvas filarióides dos ancilostomídeos. Não existem dúvidas que a confirmação parasitológica das infecções discretas são freqüentemente difíceis de serem realizadas. Entretanto é essencial para uma diagnose correta o exame repetido dos pacientes com a combinação de vários procedimentos de diagnóstico¹². Os índices de prevalência de estrogiloidíase nos habitantes da vila dos Papeleiros não foram considerados altos, mas ficou claro neste estudo a importância do uso de diferentes métodos e técnicas para demonstrar a presença de *Strongyloides* nas fezes^{10,11}.

Visto que as infecções, mesmo quando moderadas, tornam-se expressivas em hospedeiros imunodeprimidos⁵ é essencial que os pacientes sejam examinados para a presença do parasito através de exames repetidos, periódicos e/ou por diferentes procedimentos seguros de diagnóstico¹². Esta afirmação é realmente verdadeira quando o paciente estiver sendo submetido à terapia imunossupressora. Provavelmente, o número de

casos HIV positivos, neste estudo, poderia ter sido mais elevado, pois nem todos os residentes nesta vila foram submetidos aos testes específicos para o diagnóstico de HIV. O mesmo também pode ter ocorrido com os alcoólatras e com os usuários de drogas ilícitas.

REFERÊNCIAS

1. Acha, P. N.; Szypes, B. Estrogiloidíase. In Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales. 2ª ed., Organización PanAmericana de Saúde, Washington. p. 817-824, 1986.
2. Arakaki, T.; Iwanaga, M.; Kinjo, F. et al. Efficacy of agar-plate culture in detection of *Strongyloides stercoralis* infection. J. Parasitol., 76: 425-428, 1990.
3. Avendaño, L.; Hernandez, F.; Jimenez, F. et al. *Strongyloides stercoralis* en pacientes alcohólicos. Parasitol. al Día, 23: 91-94, 1999.
4. Baermann, G. Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum (Nematoden). In: Larven in Erdproben. Ned. Genesck Labt Welteverden Feestbundel, Batavia. p. 41-47, 1917.
5. Celedon, J. C.; Mathur-Waught, U.; Fox, J. et al. Systemic strongyloidiasis in patients infected with the human immunodeficiency virus. A report of 3 cases and review of the literature. Medicine (Baltimore), 73: 256-263, 1994.
6. Chavarria, F. H. *Strongyloides stercoralis*: un parásito subestimado. Parasitol. al Día, 25: 40-49, 2001.
7. Chieffi, P. P.; Chiatton, C. S.; Feltrin, E. M. et al. Coinfection by *Strongyloides stercoralis* in blood donors infected with human T-cell leukemia/lymphoma virus type I in São Paulo City, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 95: 711-712, 2000.
8. Cook, R. T. Alcohol abuse, alcoholism, and damage to the immune system. A review. Alcohol Clin. Exp. Res., 22: 1927-1942, 1998.
9. Costa-Cruz, J. M. *Strongyloides stercoralis*. In: DP Neves, Parasitologia Humana, 10ª ed., Editora Ateneu, Rio de Janeiro. p. 247-256, 2000.
10. De Carli, G. A.; Mentz, M.; Rott, M. B. et al. Prevalência das enteroparasitoses na população urbana e rural da região carbonífera da cidade de Arroio dos Ratos, no Estado do Rio Grande do Sul. Rev. Bras. Far., 78: 83-85, 1997a.
11. De Carli, G. A.; Mentz, M.; Rott, M. B. et al. Prevalência das enteroparasitoses nas vilas periféricas da grande Porto Alegre, nos assentamentos de trabalhadores rurais e na cidade de Arroio dos Ratos no Estado do Rio Grande do Sul. RBAC, 29: 185-189, 1997b.
12. De Carli, G. A. Parasitologia Clínica: Seleção de Métodos e Técnicas de Laboratório para Diagnóstico das Parasitoses Humanas. Editora Atheneu, São Paulo, 2001, 810p.
13. Ferreira, M. S. *Estrogiloidíase*. In R. Veronesi, R. Focaccia, R. Dietze. Doenças infecciosas e parasitárias, 8ª ed., Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan. p. 856-865, 1991.
14. Genta, R. M. Global soroprevalence of strongyloidiasis: critical review with epidemiological insights into prevention of disseminated disease. Rev. Infec. Dis., 2: 755-767, 1989.
15. Genta, R. M. Dysregulation of strongyloidiasis: a new hypothesis. Clin. Microbiol. Rev., 5: 345-355, 1992.
16. Gompels, M. M.; Toold, J.; Peters, B. S. et al. Disseminated strongyloidiasis in AIDS: uncommon but important. AIDS, 5: 329-332, 1991.
17. Harada, U.; Mori, O. A. New method for culturing hookworm. Yonago Acta Med., 1: 177-179, 1955.
18. Hoffman, W. A.; Pons, J. A.; Janer, S. L. The concentration methods in schistosomiasis mansoni. Puerto Rico. J. Publ. Hlth., 9: 281-298, 1934.
19. Koga, K.; Kasuya, S.; Khamboonruang, C. et al. A modified agar plate method for detection of *Strongyloides stercoralis*. Am. J. Trop. Med. Hyg., 45: 518, 1991.
20. Liu, L. X.; Weller, P. F. Strongyloidiasis and other intestinal nematode infections. Infec. Dis. Clin. North América, 7: 655-682, 1993.
21. Lutz, A. O. *Schistosomum mansoni* e a schistosomose, segundo observações feitas no Brasil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 11: 121-155, 1919.
21. Moraes, R. G. Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrogiloidíase no Brasil. Rev. Serv. Esp. Saúde Pública (RJ), 1: 507-524, 1948.
22. Muller, R. Worms and disease, a manual of medical helminthology. Int. Ideas, 68-72, 1975.
23. Oliveira, L. C. M.; Ribeiro, C. T.; Mendes, D. M. et al. Frequency of *Strongyloides stercoralis* infection in alcoholics. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 97: 119-121, 2002.
24. Pedro, R. J.; Ramos, M. C.; Branchini, M. L. M. Parasitoses intestinais I. Aspectos clínicos. In: V. Amato Neto; J. L. S. Baldy, Doenças transmissíveis. 3ª ed., Savier, São Paulo. p. 663-680, 1989.
25. Robinson, R. D.; Lindo, J. F.; Neva, F. A. et al. Imunoepidemiologic studies of *Strongyloides stercoralis* and human T lymphotropic virus type I infections in Jamaica. Southeast Asian J. Infect. Dis., 169: 692-696, 1994.

Endereço para correspondência

Prof. Dr. Geraldo Atílio De Carli
Laboratório de Parasitologia Clínica, Faculdade de Farmácia,
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS),
Porto Alegre, RS, 90619-900, Brasil.
E-mail: gdecarli@portoweb.com.br

Variabilidade biológica em parâmetros hematológicos

Biological variability in hematological quantities

Walniza Fátima Girelli¹; Paulo Henrique da Silva²; Cyntia M. T. Fadel-Picheth² & Geraldo Picheth²

RESUMO – A variabilidade biológica é a variação natural, de ocorrência fisiológica, própria do indivíduo, independente das variáveis pré-analíticas. As variações analíticas intraindividual e interindividual foram estimadas para 17 indivíduos supostamente normais, em um período de 6 semanas (duas amostras por semana, N=12) para parâmetros que compõem o hemograma. Os valores médios, em termos de coeficiente de variação, para a variabilidade biológica intraindividual (CV_i %) e interindividual (CV_g %) encontrados foram (CV_i/CV_g): 2,90/7,37 para contagem de eritrócitos; 2,37/9,43 para dosagem de hemoglobina; 2,16/8,48 para o hematócrito; 2,02/2,62 para o volume corpuscular médio (VCM); 1,80/3,48 para a hemoglobina corpuscular média (HCM); 0,92/1,49 para a concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), e 10,38/19,29 para a contagem de leucócitos. O índice de individualidade (razão CV_i/CV_g) foi calculado para os parâmetros em análise e todos apresentaram valores abaixo de 1,0 (variação 0,28 – 0,99) sugerindo que estes ensaios não são a melhor opção para a triagem ou discriminação quando um valor de referência com base na população é utilizado e podem ser mais úteis no monitoramento de uma patologia. Os valores que indicam alteração no resultado (ou diferenças críticas, com $p < 0,05$) foram estimados e apresentaram valores entre 4,1 a 8,2% para todos os parâmetros exceto para a contagem de leucócitos aonde o valor obtido foi 30,1%.

PALAVRAS-CHAVE – Variação intra e interindividual; individualidade bioquímica, análises seriais, hemograma.

SUMMARY – Biological variation is the inherent, physiologically promulgated variation arising within the individual, independent of pre-analytical variables. The analytical, within-subject (intra-individual) and between-subject (inter-individual) variation were estimated for 17 apparently healthy subjects over 6 weeks (two samples for week, N=12) for the hemogram quantities. The mean coefficient of variation for intra-individual (CV_i %) and inter-individual (CV_g %) biological variability observed were (CV_i/CV_g): 2.90/7.37 for erythrocyte count; 2.37/9.43 for hemoglobin concentration; 2.16/8.48 for hematocrit; 2.02/2.62 for mean cell volume (MCV); 1.80/3.48 for mean cell hemoglobin (MCH); 0.92/1.49 for mean cell hemoglobin concentration (MCHC), and 10.38/19.29 for leukocyte count. The individuality index (CV_i/CV_g ratio) was calculated for the parameters tested and all of them showed values below 1.0 (range 0.28 – 0.99) suggesting that they are not the best option for screening or discrimination when a population-based reference value is used and might be more helpful in monitoring a disease. The reference change value (or critical differences with $p < 0.05$) were estimated and showed values between 4.1 to 8.2% for all parameters except for leukocyte count for which 30.1% was found.

KEYWORDS – Inter- and intra-individual variation, biochemical individuality, time-series analysis, hemogram.

INTRODUÇÃO

Os componentes biológicos presentes nos fluídos orgânicos apresentam uma flutuação constante de seus níveis. Estas variações afetam a interpretação dos analitos de uso diagnóstico.

Os principais fatores que influenciam na magnitude da variação dos parâmetros biológicos podem ser classificados em três grupos: as variáveis pré-analíticas, analíticas e biológicas (Brooks, 1998). A Fig. 1 representa estas variáveis e seus componentes majoritários.

A padronização dos procedimentos pré-analíticos resulta em uma variação muito pequena para a maioria dos analitos, na prática não significativa. Portanto as variações analíticas e biológicas são as principais fontes de variação nas análises laboratoriais (Fraser, 1988).

A fase analítica sempre recebeu atenção especial dos profissionais do laboratório. Avanços muito significativos ocorreram nas últimas duas décadas, em especial com a popularização de sistemas automatizados e a

evolução tecnológica dos reagentes permitindo uma expressiva redução nos coeficientes de variação analíticos, aumentando a confiabilidade nos resultados.

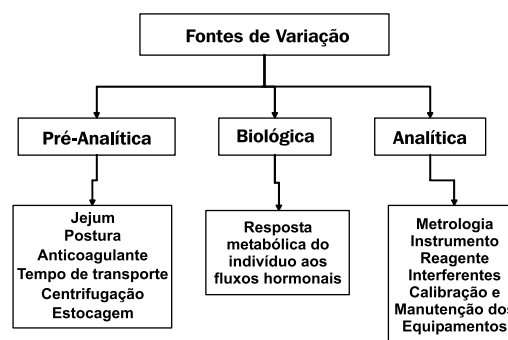


FIG. 1 – Principais fontes de variação nos ensaios laboratoriais. Adaptado de Brooks (1998), Fraser (2001).

Recebido em 09/4/2003

Aprovado em 29/1/2004

¹Farmacêutica Bioquímica do Laboratório de Análises Clínicas LABCLINIC

²Professores do Depto. Patologia Médica – Curso de Farmácia – UFPR

Trabalho realizado no Curso de Pós-Graduação de Especialização em Hematologia Laboratorial - Universidade Estadual de Ponta Grossa

TABELA 1
Fatores que compõem a variação biológica,
adaptado de Henry, *et al.* 2000

• Idade • Sexo • Menarca • Puberdade • Ciclo menstrual • Gravidez • Pós-parto • Lactação • Menopausa • Consumo de etanol • Consumo de café • Tabagismo • Exercício físico	• Estresse • Exposição à luz • Permanência no leito • Frio • Jejum • Deficiências nutricionais • Dieta vegetariana • Deficiências vitamínicas • Xenobióticos • Pressão sanguínea • Polimorfismo • Fatores étnicos • Variações geográficas
---	---

• Variação intra-individual

Kroll (2002) define a variação biológica como a "variação natural, de ocorrência fisiológica, própria do indivíduo, independente das variáveis pré-analíticas".

A variabilidade biológica reflete as flutuações ao acaso dos níveis dos analitos em torno de seus pontos homeostáticos com distribuição Gaussiana (Marshall e Bangert, 1995; Kroll, 1999). Esta fonte de variação, também descrita como fisiológica, é resultante da resposta do organismo aos diferentes estímulos fisiológicos em especial à ação hormonal. A Tab. 1 mostra os vários fatores que atuam sobre a variabilidade biológica.

Esta forma de variação é inerente e característica para um determinado indivíduo. Se os níveis de hemoglobina de um indivíduo forem monitorados observar-se-á uma flutuação deste parâmetro dia-a-dia, mesmo que sejam excluídas todas as demais formas de variação. Outro exemplo, seriam as mulheres que apresentaram alguns parâmetros bioquímicos que sofrem modificações dependentes de ciclos hormonais, o que não ocorre em homens (Ricós e Arbós, 1990).

A resposta individual e peculiar aos estímulos faz com que a amplitude desta variação biológica também oscile entre os indivíduos (Fraser, 1992). Portanto a variabilidade biológica intraindividual é composta das muitas e freqüentemente sutis alterações do metabolismo normal (Fraser e Williams, 1983). A variabilidade interindividual caracteriza a variação entre os indivíduos presentes em uma população estudada.

A quantificação da variabilidade biológica é realizada de forma indireta. A variabilidade total de um analito cuja fase pré-analítica foi cuidadosamente conduzida, observada em espaço de dias, semanas ou meses e expressa em coeficiente de variação, é descontada da variabilidade analítica, estimada pelos ensaios de imprecisão (Morrison *et al.*, 1979; Shepard *et al.*, 1981).

Neste trabalho abordamos o estudo da variabilidade analítica e biológica de parâmetros hematológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostra

Sangue total anticoagulado com EDTA dipotássico (Bioclin), obtido por punção venosa foi coletado de 17 indivíduos adultos saudáveis com idade média de 29 anos (amplitude de variação: 18 – 44) e predomínio do sexo feminino (64,7%). As amostras foram coletadas após jejum de 8 a 10 horas. A fase pré-analítica foi realizada como descrito em Silva e Hashimoto, (1999). Foram realizadas duas coletas semanais durante 6 semanas consecutivas, totalizando 12 determinações, para cada indivíduo. Todos os participantes foram voluntá-

rios e informados sobre os objetivos do projeto de pesquisa.

METODOLOGIAS

As determinações de contagem de eritrócitos, contagem de leucócitos e dosagem de hemoglobina (g/dL) foram realizadas em analisador automático Celm modelo 530CC, utilizando reagentes e procedimentos recomendados pelo fabricante. O hematócrito foi determinado em microcentrifuga marca Boing. O volume corpuscular médio (VCM), a hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram calculadas segundo Lee, *et al.* (2000) e Beutler, *et al.* (2001).

CÁLCULOS

Variabilidade analítica

Os coeficientes de variação analíticos (CV_a) para os parâmetros em estudo foram obtidos de ensaio de repetição (imprecisão analítica intra-ensaio) utilizando amostra normal em 20 corridas sucessivas. O resultado apresentado é representativo para 10 indivíduos analisados separadamente, escolhidos ao acaso entre os participantes do estudo.

Variabilidade biológica

A variabilidade biológica intra-individual (expressa como coeficiente de variação, CV_i), foi calculada como descrito em Ricós *et al.* (1994) e Marcovina *et al.* (1994), pela fórmula:

$$CV_i = \sqrt{(CV_T)^2 - (CV_a)^2}$$

Sendo, portanto, o Coeficiente de Variação Total (CV_T) representado pela soma das variações biológicas intra-individuais (CV_i) e analíticas (CV_a) envolvidas no processo.

Os valores para a variabilidade biológica intra-individual (CV_i) foram obtidos utilizando os dados individuais de cada participante do estudo, sendo utilizado para o cálculo a média, o desvio-padrão e o coeficiente de variação de todas as medidas efetuadas (Harris *et al.*, 1970).

A variabilidade interindividual (expressa como coeficiente de variação, CV_G) foi calculada utilizando a média, desvio-padrão e coeficiente de variação a partir dos dados obtidos de todos os participantes no presente trabalho (Harris *et al.*, 1980).

Índice de individualidade

O índice de individualidade (I.I.) foi calculado segundo Fraser (2001) utilizando a fórmula:

$$I.I. = \frac{\sqrt{(CV_a)^2 + (CV_i)^2}}{CV_G}$$

Referência para alteração nos valores (Reference Change Values, RCV)

O cálculo dos valores que caracterizam estatisticamente alteração no resultado, RCV, também designados de "diferenças críticas" foi realizado segundo Fraser, 2001, utilizando a fórmula:

$$RCV = \sqrt{2} \times Z \times \sqrt{(CV_a)^2 + (CV_i)^2}$$

sendo:

$$\sqrt{2}=1,414$$

Z=Z-scores para probabilidade. Os valores utilizados de Z-scores bidirecionais para as probabilidades de 99% ($p<0,01$) e 95% ($p<0,05$) foram, respectivamente de 2,58 e 1,96, sendo as estatísticas calculadas pelas fórmulas:

$$RCV99\% = 3,64 \times \sqrt{(CV_a)^2 + (CV_i)^2}$$

$$RCV95\% = 2,77 \times \sqrt{(CV_a)^2 + (CV_i)^2}$$

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas com o programa Statistica versão 5.0 (Statsoft)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O hemograma é um dos ensaios mais solicitados nos laboratórios clínicos. O conhecimento da dispersão produzida nos resultados pela variabilidade biológica é fundamental para a correta interpretação do ensaio, em especial para diferenciar estatisticamente alteração nos valores em amostras sucessivas (Cooper *et al.*, 1994).

A amostra estudada foi composta de adultos jovens saudáveis com idade média de 29 anos e predominância do sexo feminino (64,7%). Os valores médios e dispersões observadas dos parâmetros hematológicos em estudo (Tab. II) encontram-se dentro da referência para uma população normal quando os valores são ajustados para idade e sexo dos indivíduos participantes do estudo, segundo Lee *et al.* (2000).

A variabilidade analítica estimada pelo estudo de imprecisão (Tab. III) apresenta valores com ordem de grandeza semelhante aos descritos na literatura para as determinações de hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM, CHCM e leucócitos (Statland *et al.*, 1977). O menor valor para a imprecisão analítica na contagem de eritrócitos encontrado, 0,54% quando comparado a 1,6% descrito por Fraser (2001) pode sugerir a necessi-

TABELA II
Estatística descritiva dos parâmetros hematológicos estudados na amostra

Parâmetros	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Variância
Eritrócitos ($\times 10^9/L$)	204	4,978	4,88	4,20	5,89	0,135
Hemoglobina (g/dL)	204	14,052	13,75	11,60	17,00	1,783
Hematócrito (%)	204	42,980	42,00	36,00	50,00	13,526
VCM (fL)	204	86,330	86,40	80,09	97,04	5,393
HCM (pg)	204	28,220	28,21	25,43	34,87	1,066
CHCM (%)	204	32,673	32,68	31,16	34,09	0,376
Leucócitos ($/\mu L$)	204	7206,30	7000,00	4300	12300	1987694

N = 17 indivíduos x 12 coletas = 204 determinações

TABELA III
Estatísticas da imprecisão intra-ensaio

N=20	Eritrócitos/ $\times 10^9/L$	Hb/g/dL	Ht/%	VCM/fL	HCM/pg	CHCM/%	Leucócitos/ μL
Média	4,875	14,38	42	86,2	29,5	34,2	7630
SD	0,026	0,167	0,441	0,47	0,31	0,39	245,1
CVa (%)	0,54	1,16	1,05	0,54	1,06	1,16	3,21

dade de maior número de replicatas no ensaio de reprodutibilidade de forma que a dispersão desta medida seja mais representativa das variações do sistema analítico empregado.

Na Tab. IV encontram-se os valores obtidos para as variabilidades biológicas (total, intra e interindividual), bem como, os valores para o índice de individualidade (I.I.) e indicadores para caracterizar uma alteração no resultado – *reference change value* (RCV) – com níveis de significância de 95% ($p<0,05$) e 99% ($p<0,01$), respectivamente designados, *significante* e *altamente significativo*. Tanto para a variabilidade biológica intra-individual (CV_i), quanto para a interindividual (CV_g) os valores médios calculados neste trabalho assemelham-se aos descritos por Statland *et al.* (1978) e Fraser (2001) como observado na Tab. V. As amplitudes de variação mostram que podem ser encontrados indivíduos com diferenças significativas de cerca de 3 a 5 pontos percentuais (CV_i) em relação à média, respectivamente, para as determinações de contagens de eritrócitos e leucócitos.

O índice de individualidade (I.I.) é caracterizado pela relação entre a variabilidade intraindividual e a interindividual (CV_i/CV_g). A influência da variabilidade

TABELA IV
Variabilidades Analítica (CV_a),
Biológica Inter e Intra-individuais (CV_i e CV_g),
Índice de Individualidade (I.I.) e
Referência para alteração nos valores (RCV)
para parâmetros hematimétricos

Variáveis	CVa (%)	CVi (%)	CVg (%)	CVg (%)	I.I.	RCV (%)	
						p<0,05	p<0,01
Eritrócitos	0,54	2,98 [1,13–6,03]	2,90 [0,99–6,00]	7,37	0,40	8,2	10,7
Hemoglobina	1,16	2,68 [1,32–5,19]	2,37 [0,61–5,59]	9,43	0,28	7,3	9,6
Hematócrito	1,05	2,42 [1,61–4,38]	2,16 [1,22–4,25]	8,48	0,28	6,7	8,7
VCM	0,54	2,13 [1,06–6,16]	2,02 [0,91–6,13]	2,62	0,80	5,8	7,6
HCM	1,06	2,23 [1,04–6,46]	1,80 [1,00–6,37]	3,48	0,60	5,8	7,6
CHCM	1,16	1,53 [0,83–2,21]	0,92 [0,39–2,17]	1,49	0,99	4,1	5,4
Leucócitos	3,21	10,90 [5,44–16,30]	10,38 [4,38–15,71]	19,29	0,56	30,1	39,5

I.I. = índice de individualidade ($[(CV_a)^2 + [(CV_i)^2]^{1/2}/CV_g]$); RCV = *Reference Change Value* ou referência para alteração nos valores com significância de 95% e 99% (respectivamente, $2,77 \times [(CV_a)^2 + [(CV_i)^2]^{1/2} + 3,64 \times [(CV_a)^2 + [(CV_i)^2]^{1/2}]$). Os valores entre colchetes representam a amplitude de variação (mínimo e máximo)

TABELA V
Comparação dos resultados de Variabilidades Analítica (CV_a) e
Biológica Intra e Interindividuais (CV_i e CV_g) com outros trabalhos

Variáveis CV (%)	Este trabalho			Statland <i>et al.</i> , 1978			Fraser, 2001		
	CV _a	CV _i	CV _g	CV _a	CV _i	CV _g	CV _a	CV _i	CV _g
Eritrócitos	0,54	2,90	7,37	—	—	—	1,6	3,2	6,1
Hemoglobina	1,16	2,37	9,43	0,8	2,6	8,4	1,4	2,8	6,6
Hematócrito	1,05	2,16	8,48	1,4	2,7	8,6	1,4	2,8	6,6
VCM	0,54	2,02	2,62	—	—	—	0,7	1,3	4,8
HCM	1,06	1,80	3,48	—	—	—	0,8	1,6	5,2
CHCM	1,16	0,92	1,49	—	—	—	0,9	1,7	2,8
Leucócitos	3,21	10,38	19,29	2,5	15,7	32,7	5,3	10,4	27,8

Os valores descritos por Fraser, 2001 são compilações obtidas de Ricós, *et al.* Scand J Clin Lab Invest; v. 59, p. 491-500, 1999, com atualizações em site na internet (<http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>)

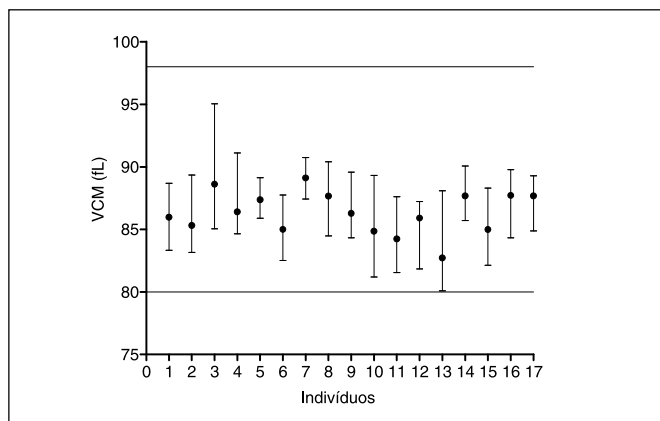


FIG. 3 – Médias e amplitude de variação para a determinação do Volume Corpuscular Médio (VCM) na amostra em estudo. As linhas tracejadas representam os valores de referência.

de analítica, quando em valores baixos como os obtidos neste estudo, é pequena. Quando o valor obtido para o I.I. de um teste bioquímico é maior que 1,4 indica que este ensaio tem eficiência para ser utilizado na triagem ou na obtenção de um diagnóstico inicial preliminar (Howey *et al.*, 1987). Segundo Ricós *et al.* (1994) valores de I.I. menores que 0,6 caracterizam um ensaio com pequeno valor diagnóstico quando se compara valores de uma única determinação com os valores de referência. Os valores obtidos para o índice de individualidade neste trabalho (Tab. IV, I.I.) são semelhantes aos descritos por Fraser, 2001 e todos inferiores a unidade. Winker e Statland (1977) descrevem valores para o I.I. das determinações de hemoglobina e hematócrito como 0,29, em excelente concordância com o valores de 0,28 encontrado neste trabalho para as mesmas análises.

Portanto, os parâmetros hematológicos estudados não são a melhor opção para a triagem ou para diferenciar um indivíduo quando se compara os valores do ensaio com aqueles obtidos de uma população normal, uma vez que a variabilidade interindividual é menor que a variabilidade intraindividual ($CV_i < CV_G$). Estes parâmetros podem ser mais úteis no monitoramento de um processo patológico pela menor flutuação relativa que apresentam no indivíduo. As Fig. 2 e 3 exemplificam o exposto anteriormente.

Na Fig. 2 observamos as média e amplitude de variação de todos os indivíduos participantes do estudo, para a determinação da hemoglobina, cujo índice de individualidade estimado de 0,28 foi o menor entre os parâmetros estudados. Pode-se observar que um indivíduo poderia ter seus resultados alterados significativamente sem que esta alteração ultrapasse os limites de referência para a determinação de hemoglobina. Como exemplo, o indivíduo nº 6 na Fig. 1 (média 15,9g/dL e amplitude de variação de 15,5 a 16,4) necessitaria variar em cerca de 4 vezes sua dispersão total para que fosse caracterizada uma redução na concentração de hemoglobina quando o limite mínimo de 12g/dL for empregado como valor de referência. Os ensaios com índice de individualidade baixo ($<0,6$) são mais úteis em quantificações seriadas para o acompanhamento de um processo patológico.

A Fig. 3 mostra o comportamento da variabilidade biológica para a determinação do volume globular médio (VCM), índice importante na classificação de ane-

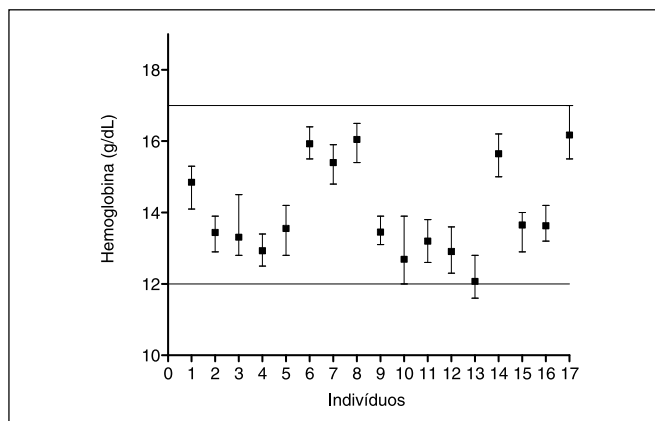


FIG. 2 – Médias e amplitude de variação para a determinação de hemoglobina na amostra em estudo. As linhas tracejadas representam os valores de referência.

mias que apresenta índice de individualidade de 0,80. Comparativamente à determinação de hemoglobina, o VCM pode ser mais adequado para a triagem e diagnóstico inicial, uma vez que a uma variação total de cerca de 2 a 3 vezes a amplitude de variação permitiria para a maior parte dos indivíduos estudados a possibilidade de detecção como alterados, considerando os valores de referência utilizados. Portanto, valores de índice de individualidade acima de 1,4 indicam testes mais úteis no diagnóstico quando se emprega valores de referência com base em população.

A monitoração de um paciente utilizando parâmetros hematológicos é processo rotineiro no laboratório clínico. O conhecimento das fontes de variações dos testes permite estimar parâmetros para identificar quando uma variação é estatisticamente significativa. Harris (1977) e Eckfeldt *et al.* (1994) calculam a alteração mínima detectável em um ensaio laboratorial como 2,77 vezes a raiz quadrada das soma das variâncias ao quadrado das variações biológica intraindividual e analítica. Fraser (2001) descreve este procedimento estatístico para significância de 95% e 99% e recomenda a designação "referência para alteração nos valores" (RCV, *Reference Change Value*) em substituição às designações "alterações mínimas" ou "diferenças críticas", esta última preferida na literatura.

Os valores para caracterizar o RCV para os parâmetros hematológicos estudados encontram-se na Tabela 4 (RCV). Para uma probabilidade de 95% ($p < 0,05$) o RCV variou de 4,1 % a 30,1%, e para uma probabilidade de 99% ($p < 0,01$) a variação foi de 5,4% a 39,5%, sendo a contagem de leucócitos a responsável pelos maiores valores e a concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) pelo menor. Esta estatística é aplicada quando se compara dois resultados sucessivos em um mesmo paciente. Exemplificando, um paciente que apresenta um resultado de hemoglobina de 15 g/dL na primeira determinação e 14g/dL em uma segunda determinação teria uma variação de 6,7% ($[(15-14)/15] \times 100$) em relação ao primeiro ensaio. O valor encontrado (6,7%) é menor que o calculado (7,3% para $p < 0,05$ e 9,6% $p < 0,01$, Tab. IV – RCV) o que caracteriza que a variação na determinação de hemoglobina não é significativa, estatisticamente. A adoção prática dos valores de RCV descritos está vinculada a laboratórios que mantenham os coeficientes de variação analíticos baixos. Também deve ser ressaltado que o

RCV está baseado no coeficiente de variação analítico intra-individual médio e conseqüentemente indivíduos com variabilidades expressivamente maiores ou menores poderão ser interpretados de forma inadequadas com os valores de RCV propostos.

Em síntese, o estudo da variabilidade biológica nos parâmetros hematológicos revelou ser este fator o principal componente de variação no resultado em amostras com bom controle pré-analítico. Mensurar a magnitude da variação biológica é importante para a interpretação destes parâmetros e permite estimar valores que caracterizam variação estatística entre duas amostras sucessivas no monitoramento de um paciente. Os valores encontrados para a variabilidade biológica na amostra em estudo são semelhantes aos descritos na literatura internacional o que pode sugerir que a dispersão e os principais fatores que influenciam a variação biológica podem apresentar similaridade entre diferentes populações para os parâmetros hematológicos estudados.

Este trabalho reporta o primeiro estudo de variabilidade biológica para uma população brasileira em parâmetros do hemograma

REFERÊNCIAS

1. Beutler, E., Liechtman, M. A., Coller, B. S., Kipps, T. J. Williams Hematology. 6ª ed., McGraw-Hill: New York, 2001.
2. Brooks, Z. C. Quality control in six simple steps. AACC Press: Washington, 1998, p.5-20.
3. Cooper, G. R.; Smith, S. J.; Myers, G. L.; Sampson, E. J. e Magid, E. Estimating and minimizing effects of biologic sources of variation by relative range when measuring the mean of serum lipids and lipoproteins. Clin. Chem., 40:227 - 32, 1994.
4. Eckfeldt, J. H.; Chambless, L. E.; Shen, Y.L. Short term within-person variability in clinical chemistry test results. Arch. Pathol. Med., 118:496 - 500, 1994.
5. Fraser, C. G.; Williams, P. Short-term biological variation of plasma analytes in renal disease. Clin. Chem., 29:508 - 10, 1983.
6. Fraser, C. G. The application of theoretical goals based on biological variation data in proficiency testing. Arch. Pathol. Lab. Med., 112:404 - 9, 1988.
7. Fraser, C. G. Biological variation in clinical chemistry. An update: collated data, 1988-1991. Arch. Pathol. Lab. Med., 116:916 - 23, 1992.
8. Fraser, C. G. Biological variation: from principles to practice. AACC Press: Washington, 2001.
9. Harris, E. K. Statistical principles underlying analytic goal-setting in clinical chemistry. Am. J. Clin. Pathol., 72:374 - 82, 1979.
10. Harris, E. K. Step-by-step algorithm for computing critical range of next observation based on previous time series. Clin. Chem., 23:2179-80, 1977.
11. Harris, E. K.; Cooil, B. K.; Shakarji, G. e Williams, G. Z. On the use of statistical models of within-person variation in long-term studies of healthy individuals. Clin. Chem., 26:383-91, 1980.
12. Harris, E. K.; Kanosky, P.; Shakarji, G.; Ciolove, E. Biological and analytic components in variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects. II Estimating biological components of variation. Clin. Chem., 16:1022-27, 1970.
13. Henry, J.; Petitclerc, C.; Fuentes-Arderiu X.; Hyltoft P. P.; Queraltó J. M.; Schiele F.; Siest G. Need for revisiting the concept of reference values. Clin Chem Lab Med., 38:589-95, 2000.
14. Hölzel, W. G. E. Intra-individual variation of analytes in serum from patients with chronic liver diseases. Clin. Chem., 33:1133-36, 1987.
15. Howey, J. E. A.; Browning, M. C. K.; Fraser, C. G. Selecting the optimum specimen for assessing slight albuminuria, and a strategy for clinical investigation: novel uses of data on biological variation. Clin. Chem., 33:2034 - 38, 1987.
16. Kroll, M. H. Biological variation of glucose and insulin includes a deterministic chaotic component. BioSystems, 50:189 - 201, 1999.
17. Kroll, M. H. Evaluating sequential values using time-adjusted biological variation. Clin. Chem. Lab. Med. 40:499 - 504, 2002.
18. Lee, R. G., Foerster, J., Lukens, J., Paraskevas, F., Greer, J. P., Rodgers, G. M. Wintrobe's - Clinical Hematology, 10ª ed., Lippincott: Williams & Wilkins, 2000.
19. Marcovina, S. M.; Gaur, V. P. e Albers, J. J. Biological variability of cholesterol, triglyceride, low- and high-density lipoprotein cholesterol, lipoprotein(a), and apolipoproteins A-I and B. Clin. Chem., 40:574 - 8, 1994.
20. Marshall, W. J.; Bangert, S. K. Clinical Biochemistry. Metabolic and clinical aspects. Churchill Livingstone: New York, 1995, p. 7-24.
21. Morrison, B.; Shenkin, A.; Mclelland, A.; Robertson, D. A.; Barrowman, M.; Graham, S.; Wuga, G.; Cunningham, K. J. M. Intra-individual variation in commonly analyzed serum constituents. Clin. Chem., 25:1799 - 1805, 1979.
22. Ricós, C. e Arbós, M. A. Quality goals for hormone testing. Ann. Clin. Biochem., 27:353 - 8, 1990.
23. Ricós, C.; Jiménez, C. V.; Hernández, A.; Simón, M.; Perich, C.; Alvarez, V.; Minchinela, J. e Maciá, M. Biological variation in urine samples used for analyte measurements. Clin. Chem., 40:472 - 7, 1994.
24. Ricós C.; Alvarez V.; Cava F.; Garcia-Lario J. V.; Hernandez A.; Jimenez C. V.; Minchinela J.; Perich C.; Simon M. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress. Scand J Clin Lab Invest; 59:491-500, 1999. [atualizações podem ser obtidas em <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>]
25. Shephard, M. D. S.; Penberthy, L. A. e Fraser, C. G. Short- and long-term biological variation in analytes in urine of apparently healthy individuals. Clin. Chem., 27:569 - 73, 1981.
26. Silva, P. H.; Hashimoto, Y. Interpretação laboratorial do eritograma. Lovise: São Paulo, 1999.
27. Statland, B. E.; Winkel, P.; Harris, S. C.; Burdsall, M. J.; Saunders, A. M. Evaluation of biologic sources of variation of leukocyte counts and other hematologic quantities using very precise automated analyzers. Am. J. Clin. Pathol., 69:48 - 54, 1977.
28. Winkel, P.; Statland, B. E. Using the subject as his own referent in assessing day-to-day changes of laboratory test results. Contemp. Topics Anal. Clin. Chem., 1:287 - 317, 1977.

Museu de Análises Clínicas

A SBAC e o PNCQ estão instalando um museu de equipamentos utilizados na especialidade e convocam os laboratórios participantes e outros interessados que tenham ainda em seu poder equipamentos e utensílios antigos, como ureômetros, aparelhos de Van Slike, colorímetros de Dubosq, etc. a fazerem a sua doação para esse acervo.

Os doadores e os equipamentos serão identificados com uma placa. Quando estiverem instalados, sua exibição poderá ser vista durante os congressos da SBAC.

Monitoramento da anemia em pacientes com insuficiência renal crônica*

The monitoring of anemia in patients with chronic renal deficiency

Rosane Manzoni Seerig¹; Neuza do Rosário Martins² & Luís Antônio Esmerino³

RESUMO – Em pacientes com insuficiência renal crônica, a anemia é uma das complicações secundárias mais frequentemente observadas. Essa anemia pode ser corrigida com a administração do hormônio eritropoetina. O paciente renal crônico, utilizando eritropoetina, deve realizar exames sanguíneos mensais. O nível-alvo do hematócrito deverá ser entre 33% e 36%, e a hemoglobina entre 11g/dL a 12g/dL. O metabolismo do ferro deve ser avaliado a cada três meses. No presente estudo, monitoramos a anemia de 15 desses pacientes durante 12 meses (4 trimestres). Análise estatística mostrou que: contagem de eritrócitos, hemoglobina, HCM e RDW se mantiveram estáveis ($P > 0.05$); o hematócrito aumentou significativamente do 1º para o 2º trimestre ($P < 0.05$), e com as reduções nas doses de eritropoetina, os valores retornaram para os níveis iniciais, embora ligeiramente elevados; VCM aumentou significativamente ($P < 0.01$) do 1º para o 2º trimestre e permaneceu elevado no 3º ($P < 0.001$) e no 4º trimestre ($P < 0.05$); HCCM diminuiu ($P < 0.001$) do 1º para o 2º trimestre e permaneceu assim nos demais trimestres. Observou-se que, no monitoramento da anemia desses pacientes, todos os parâmetros do eritrograma devem ser considerados, para que se possa melhor controlar a anemia e ajustar a dose de eritropoetina a ser administrada.

PALAVRAS-CHAVE – Anemia, eritropoetina, insuficiência renal crônica,

SUMMARY – In patients with chronic renal deficiency, anemia is one of the most secondary complications frequently observed. This anemia could be amended through the administration of the hormone erythropoietin. The chronic renal patient who receives erythropoietin must be submitted to monthly blood exams. The ideal hematocrit level should be between 33% and 36% and hemoglobin should stay between 11g/dL and 12g/dL. The iron metabolism must be evaluated every three months. In this study we monitored the anemia of 15 chronic renal patients during 12 months (four quarters). The statistic analysis demonstrated that the erythrocyte and the hemoglobin levels, MCH and RDW, remained stable ($P > 0.05$); hematocrits increased significantly from the first to the second quarter ($P < 0.05$), and with reductions in the doses of erythropoietin, values went back to their initial levels, though still slightly high; MCV increased significantly ($P < 0.01$) between the first and second quarter and remained high during the third ($P < 0.001$) and fourth quarters ($P < 0.05$); MCHC decreased ($P < 0.001$) from the first to the second quarter and thus remained during the following quarters. We observed that in the monitoring of chronic renal patients anemia all parameters of the erythrogram must be considered, so that a better control of the anemia can be obtained and the dose of erythropoietin to be administered can be adjusted.

KEYWORDS – Anemia, chronic renal deficiency, erythropoietin.

INTRODUÇÃO

Em pacientes com insuficiência renal crônica, a anemia é uma das complicações secundárias frequentemente mais observadas. Geralmente, cerca de 90% desses pacientes, apresentam algum grau de anemia²⁰. Esta anemia é, primeiramente, um estado de deficiência endócrina que pode ser corrigido com o hormônio eritropoetina-EPO^{16,9}. Esse hormônio é um dos principais fatores de crescimento hematopoiético. A diminuição da quantidade de oxigênio cedida pelo sangue aos tecidos leva à produção renal de EPO, que atua sobre a medula óssea, levando ao aumento da produção de eritrócitos³.

A anemia nesses pacientes, geralmente é classificada como normocítica e normocrômica, e depende de três vertentes fisiopatológicas:

- a) perda de sangue;
- b) destruição aumentada das hemácias; e
- c) redução da eritropoese¹⁴.

Em decorrência da anemia, os pacientes podem apresentar várias complicações, como:

- a) alterações cardiovasculares, com aumento do débito cardíaco, hipertrofia ventricular, angina e insuficiência cardíaca;
- b) disfunção sexual; e
- c) alterações na resposta imune.

Além disso, a anemia estigmatiza a vida do doente, ela o torna debilitado física e mentalmente. A perda da qualidade de vida pode ser influenciada por vários fatores, que incluem até as restrições impostas pelo tratamento⁶. Nesse aspecto, o tratamen-

Recebido em 22/5/2003

Aprovado em 27/10/2003

*Trabalho realizado no Lab. de Anál. Clín. São Francisco, Francisco Beltrão, PR

Monografia no Curso de Especialização em Hematologia Laboratorial da Univer. Est. de Ponta Grossa – UEPG

¹Farmacêutica-Bioquímica do Lab. de Anál. Clín. São Francisco, Francisco Beltrão, PR; aluna do Curso de Especialização em Hematologia Laboratorial da UEPG

²Médica Nefrologista da Clínica de Doenças Renais do Sudoeste Ltda, Francisco Beltrão, PR

³Professor Adjunto do Dep. de Análises Clínicas e Toxicológicas da UEPG, Ponta Grossa – PR

to com EPO melhora a qualidade de vida, diminuindo a morbidade e aumentando a sobrevida dos pacientes.

Até o início da década de 80 já se sabia que o plasma rico em EPO, poderia reverter a anemia de carneiros urêmicos; no entanto, o único tratamento para repor as perdas sanguíneas em pacientes renais crônicos era através da transfusão de concentrado de hemácias. A partir da década de 80, a EPO passou a ser produzida por técnicas de recombinação de DNA, e a eritropoetina recombinante humana (rHuEPO) passou então, a ser administrada nesses pacientes. Em 1987, Eschbach e colaboradores¹⁰ publicaram o resultado de uma pesquisa em que a rHuEPO havia sido administrada a 25 pacientes anêmicos com insuficiência renal crônica. Com essa pesquisa, eles revolucionaram o tratamento dessa anemia e demonstraram que a eritropoetina era efetiva e podia diminuir a necessidade de transfusões, com seus riscos de sensibilização imunológica, infecções e a sobrecarga de ferro¹⁰. O primeiro caso de paciente que fez uso da rHuEPO no Brasil, foi relatado por Abrahão e colaboradores em 1989². Os benefícios do tratamento foram surpreendentes e abriram um novo horizonte para o tratamento da anemia dos pacientes renais crônicos em diálise no Brasil.

O paciente renal crônico que utiliza eritropoetina deve realizar exames sanguíneos mensais, com a finalidade de controlar a anemia e ajustar melhor a dose de rHuEPO a ser administrada. O nível-alvo do hematócrito deverá ser entre 33% e 36% e a hemoglobina entre 11g/dL a 12g/dL¹. O metabolismo do ferro deve ser avaliado a cada três meses. A deficiência de ferro é observada quando a concentração sérica de ferritina for menor que 100µg/L e se a saturação de transferrina for menor que 20%⁷.

O objetivo deste trabalho foi monitorar a anemia, através da análise dos dados obtidos do eritrograma de pacientes com insuficiência renal crônica, em tratamento dialítico, e que estavam fazendo uso de rHuEPO. Devido às várias complicações e às alterações decorrentes da deficiência de ferro, os pacientes que estavam utilizando ferro foram excluídos da análise dos dados. Com esse procedimento esperava-se observar o efeito do tratamento com rHuEPO sem a interferência da deficiência de ferro.

MATERIAIS E MÉTODOS

Pacientes

No presente trabalho apresentamos os resultados de um estudo sobre o monitoramento da anemia, por um período de um ano, de julho de 2000 a junho de 2001, com 15 pacientes portadores de insuficiência renal crônica, submetidos a tratamento hemodialítico.

Esses pacientes foram selecionados de um total de 72 pacientes dialisados no serviço. Como critérios para inclusão na pesquisa, selecionaram-se os pacientes que preenchiam os seguintes critérios:

- a) ter idade maior que 18 anos;
- b) estar em programa dialítico três vezes por semana, sem intercorrências, e

c) estar utilizando eritropoetina.

Foram excluídos da pesquisa:

- a) as pacientes grávidas;
- b) os pacientes que apresentaram deficiência de ferro ou estavam fazendo a sua reposição, e
- c) os pacientes que receberam transfusão.

A população alvo estudada foi composta de 15 pacientes com idade de $42 \pm 13,7$ anos e pesando $62,7 \pm 10,3$ Kg. Pacientes do sexo feminino, 5 apresentavam idade de $41,8 \pm 9,3$ anos e peso de $57 \pm 6,8$ Kg. Em 3 pacientes do sexo feminino, administrou-se eritropoetina sem intervalos e em 2, administrou-se eritropoetina com intervalos. Pacientes do sexo masculino, 10 apresentavam idade de $42,1 \pm 15,9$ anos e peso de $65,6 \pm 10,8$ Kg. Em 6 desses pacientes, administrou-se eritropoetina com interrupção e em 4, administrou-se eritropoetina sem interrupção.

Protocolo de utilização da eritropoetina

A eritropoetina recombinante humana liofilizada (rHuEPO), apresentava-se em frasco ampola de 2.000 e 4.000U e foi administrada aos pacientes por via subcutânea, durante duas fases consecutivas, indução e manutenção do hematócrito. As eritropoetinas utilizadas foram a Eritromax[®] e Tinax[®].

A prescrição seguiu um protocolo de tratamento e, os pacientes, para serem incluídos nesse protocolo, deveriam apresentar cumulativamente os 3 itens:

- a) pacientes portadores de anemia, caracterizada por hemoglobina menor do que 10g/dL ou hematócrito menor do que 30%;
- b) estoques de ferro adequados;
- c) ausência de outras causas de anemias, como sangramento, hemólise, anemia perniciosa ou hemoglobinopatias.

Na fase de indução (2 meses) os pacientes receberam a dose de 100U/Kg/semana e na fase de manutenção, 50U/kg/semana de rHuEPO.

A administração do fármaco foi realizada pela enfermagem. A medida do peso e da pressão arterial, assim como, a anotação dos efeitos colaterais dos pacientes, foram realizadas a cada sessão de hemodialise. Ajustes na dose da medicação anti-hipertensiva foram efetuados quando necessário. A eritropoetina é geralmente fornecida pelo Ministério da Saúde.

Monitoramento do metabolismo do ferro

O monitoramento do metabolismo do ferro foi realizado através das dosagens de ferro sérico, índice de saturação da transferrina (IST) e ferritina. As determinações foram realizadas a cada três meses.

A dosagem de ferro sérico foi realizada pelo método fotométrico em aparelho de automação (Airone 200[®]). O valor de referência utilizado foi de: 50µg/dL a 150µg/dL.

Para a determinação do IST dosamos a capacidade total de ligação do ferro pelo método colorimétrico e dosamos o ferro sérico como mencionado acima. Em seguida, aplicamos a fórmula:

$$\text{IST (\%)} = \frac{\text{Ferro sérico}}{\text{capacidade total de ligação do ferro}} \times 100$$

Na deficiência de ferro, o IST é menor que 20%. Na prática, esse índice deve ser mantido entre 25 a 40%⁷.

A ferritina sérica foi determinada pelo método de quimioluminescência. Na deficiência de ferro, a concentração sérica de ferritina é inferior a 100mg/L; no entanto, recomenda-se que o nível seja mantido entre 200 e 500µg/L⁷.

Monitoramento da anemia

Foram realizados eritogramas mensais dos pacientes. Os eritogramas foram realizados em aparelho de automação Cell-Dyn 1700 Abbot®. O equipamento fornece 7 parâmetros: eritrócitos (HE), hemoglobina (HB), hematócrito (HT), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW).

As extensões sanguíneas foram coradas pelo método de May Grunwald-Giemsa modificado e analisadas pelo mesmo observador.

Análise estatística

Para análise estatística foram realizadas comparações trimestrais dos dados fornecidos pelo eritograma e metabolismo do ferro. O monitoramento da anemia foi realizado mensalmente e as dosagens de ferro sérico, IST e ferritina, trimestralmente.

A análise estatística foi realizada com um programa de computador, comparando-se as dosagens realizadas nos 4 trimestres de duração da pesquisa. Cada trimestre constituiu um grupo de dados para estudo. O 1º trimestre foi denominado grupo A, o 2º grupo B, o 3º grupo C e o 4º grupo D.

O programa aplica o teste ANOVA e quando o resultado é considerado significativo é aplicado o teste de Tukey-Kramer (TK) para a comparação dos grupos. Os níveis de significância P são expressos em P<0.05, P<0.01 e P<0.001.

RESULTADOS

Administração de eritropoetina

Os dados referentes à administração de eritropoetina estão na Tab. I.

Metabolismo do ferro

A Tab. II mostra o resumo do metabolismo do ferro com os valores utilizados como referência (VR), os resultados obtidos com o respectivo desvio-padrão, juntamente com o resultado da análise estatística.

Os parâmetros fornecidos pela análise estatística mostraram que:

- Com relação à determinação da ferritina, o teste ANOVA mostrou que P=0.5988, considerado não significativo. Como o teste ANOVA não foi significativo, o teste de Tukey-Kramer (TK) não foi aplicado, pois este só é aplicado quando o teste ANOVA é significativo.

- Na análise estatística da intensidade de satura-

TABELA I
Dados referentes a administração de eritropoetina (em Unidades = U)

Parâmetro	1º Trim	2º Trim	3º Trim	4º Trim
	A	B	C	D
Dose mensal média trimestral em U	18.857	18.524	21.192	21.903
Desvio-padrão (SD)	3.454	3.071	7.605	7.825
Número de doses no trimestre (n)	42(45)*	35(45)	26(45)	31(45)
Erro padrão das médias (SEM)	0,5330	0,5192	1,492	1,405
Limite confiança baixo (95%)	17.781	17.459	18.120	19.034
Limite de confiança alto (95%)	19.934	19.570	24.265	24.773
Valor mínimo	16.000	16.000	15.000	15.000
Mediana	18.500	18.000	18.000	18.000
Valor Máximo	30.000	26.000	40.000	40.000

*Os pacientes receberam 42 doses de um total de 45 possíveis no trimestre.

TABELA II
Resumo do metabolismo do ferro

Parâmetro	VR	1º Trim	2º Trim	3º Trim	4º Trim
		A	B	C	D
Ferritina (µg/L)	≥100	509±368a	356±359a	406±324a	342±419 a
I.S.T (%)	≥20	23±6 a	37±18 a	37±20 a	27±8 a
Ferro (µg/dL)	45-150	75±22 a	73±17 a	83±37 a	96±30 a

Na comparação entre os trimestres as letras iguais na mesma linha indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre eles (P>0.05).

TABELA III
Resumo do eritograma como o valor médio trimestral e o seu respectivo desvio-padrão

Parâmetro	1º Trim	2º Trim	3º Trim	4º Trim
	A	B	C	D
CE milhões/µL	2,680±0,496 a	2,933±0,660 a	2,837±0,655 a	2,774±0,648 a
HT %	23,9±4,3 a	27,42±6,7 b*	26,74±6,3 ab	25,60±6,4 ab
HB g/dL	8,20±1,4 a	59,07±2,1 a	78,73±2,17 a	8,49±2,11 a
VCM fl	89±3 a	93±5 b**	94±4 b***	92±6 b*
HCM pg	31±2 a	31±1 a	31±1 a	30±2 a
CHCM %	34,03±1,37 a	32,92±1,14 b***	32,40±0,99 b***	32,92±1,66 b***
RDW %	14,01±1,42 a	14,16±1,38 a	14,48±1,91 a	14,87±2,27 a

As letras iguais na mesma linha indicam que não houve diferença estatisticamente significativa na comparação entre os trimestres (P>0.05). Letras diferentes na mesma linha e o asterisco indica diferença estatística onde: (*) P<0.05; (**) P<0.01 e (***) P<0.001.

ção da transferrina (IST), o teste ANOVA mostrou que P = 0.0182, considerado significativo. Foi então aplicado o teste de TK e este mostrou que quando o valor de q for >3.748, o valor de P é <0.05. No entanto, o resultado do teste TK mostrou valores de q

menores que 3.748, que foram, então, considerados não significantes.

- Na análise estatística referente à dosagem do ferro sérico, o teste ANOVA mostrou que $P=0,0972$, não significativa.

Monitoramento do eritrograma

A Tab. III mostra o resumo do eritrograma com os valores obtidos nos 4 trimestres, com o respectivo desvio-padrão, juntamente com o resultado da análise estatística para a contagem de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM e RDW.

Os parâmetros fornecidos pela análise estatística mostraram que:

- Na contagem de eritrócitos, o teste ANOVA com valor de $P=0,2651$ foi considerado não significativo. O teste de TK não foi realizado.

- Na determinação do hematócrito, o teste ANOVA mostrou que $P=0,0374$, considerado significativo. Foi então aplicado o teste de TK e o resultado mostrou que quando o valor de q for $>3,677$ o valor de P é $<0,05$. Na comparação A x B o teste TK mostrou que $q=3,879$, logo, significativo (Tab. III). As demais comparações possíveis foram consideradas não significantes.

- Na determinação da hemoglobina, o teste ANOVA mostrou que $P=0,2002$, considerado não significativo.

- Na comparação com os valores do VCM o teste ANOVA mostrou que $P=0,0001$, considerado extremamente significativo. Foi então aplicado o teste TK. Quando o valor de q for $>3,677$, o valor de P é $<0,05$. Na comparação A x B $q=5,420$ ($P<0,01$); A x C $q=6,794$ ($P<0,001$); e A x D $q=3,950$ ($P<0,05$). As demais comparações possíveis foram consideradas não significantes.

- Na comparação com os valores da determinação da HCM, o teste ANOVA mostrou que $P=0,7468$ ($P>0,05$), considerado não significativo.

- Na comparação com os valores da determinação da CHCM, o teste ANOVA mostrou que $P=0,0001$ ($P<0,05$), considerado extremamente significativo. Foi então aplicado o teste TK e este mostrou que quando o valor de q for $>3,677$ o valor de P é $<0,05$. Na comparação A x B $q=5,611$ ($P<0,001$); A x C $q=8,326$ ($P<0,001$); A x D $q=5,645$ ($P<0,001$). Essas comparações foram consideradas significantes com valores inferiores ao 1º semestre (Tab. III). As demais comparações possíveis foram consideradas não significantes (Tab. III).

- Na comparação com os valores da amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW), o teste ANOVA mostrou que $P=0,1090$, considerado não significativo.

DISCUSSÃO

Desde a introdução da eritropoetina recombinante humana (rHuEPO) na nefrologia clínica, cerca de 15 anos atrás, tem sido observado um aumento lento e gradual no nível de hemoglobina (HB) dos pacientes anêmicos com insuficiência renal crôni-

ca, de tal forma que esses pacientes estão ainda moderadamente anêmicos e os níveis alvo de HB (11 para 12g/dL) não têm sido alcançados com sucesso em muitos pacientes. Deficiência de ferro funcional, juntamente com doses insuficientes de rHuEPO e fatores de comorbidade como inflamação/infecção têm sido os maiores obstáculos para que o nível alvo de HB, com o emprego da rHuEPO, não esteja sendo alcançado⁸. Todavia o uso da rHuEPO revolucionou o tratamento da anemia em pacientes com insuficiência renal crônica. O seu uso aumentou a sobrevida, diminuiu a hospitalização, e melhorou a qualidade de vida dos pacientes¹⁹.

Para que o nível alvo de HB seja alcançado, o NKF-DOQI¹⁵ recomenda que os pacientes recebam ferro endovenoso como reposição, uma vez que durante os procedimentos de hemodiálise, o paciente tem uma perda significativa de sangue (ferro). Administração regular de ferro endovenoso aliado a doses adequadas de rHuEPO, preferivelmente, subcutaneamente, ao invés de por via intravenosa, pode trazer melhores resultados e o nível alvo de HB pode ser alcançado na maioria dos pacientes⁸.

No presente trabalho, apresentamos os resultados do monitoramento da anemia de 15 pacientes com insuficiência renal crônica que estavam em programa dialítico, três vezes por semana, sem intercorrências e utilizando eritropoetina. É importante ressaltar que os pacientes selecionados não foram privados, em nenhum momento, da utilização do ferro porque estavam sendo observados neste estudo. Os pacientes não fizeram reposição de ferro porque não apresentaram naturalmente essa deficiência e o clínico não julgou necessária a reposição. Esse procedimento foi adotado como parte do objetivo do estudo, que foi o de observar o efeito do tratamento com a eritropoetina em pacientes renais crônicos sem a interferência da deficiência de ferro.

A análise estatística não mostrou diferença significativa nos níveis de ferritina, IST e ferro sérico (Tab. II). Dessa forma, os pacientes estudados apresentaram estatisticamente os mesmos níveis de ferritina, IST e ferro sérico durante todo estudo. A queda, embora não significativa, no nível de ferritina, observado durante todo estudo, pode ser devido à utilização do estoque ferro na eritropoese (Tab. II).

O metabolismo do ferro é importante para garantir uma eritropoese eficiente. O ferro é responsável pela formação do grupo heme responsável pela formação da hemoglobina e a sua deficiência, é responsável pela resistência ao tratamento com rHuEPO.

Os pacientes, em programa regular de hemodiálise, foram tratados com rHuEPO liofilizada por via subcutânea. Interrupções no tratamento foram realizadas conforme critérios clínicos, laboratoriais e à disponibilidade da eritropoetina. Efetuou-se uma monitoração clínica e laboratorial, objetivando atingir um hematócrito de 30% (esse era o parâmetro recomendado quando iniciamos o estudo).

Os níveis-alvos do hematócrito e da hemoglobina a serem atingidos em pacientes portadores de insuficiência renal crônica foram revistos. Até re-

centemente, recomendava-se manter os pacientes com HT em torno de 30% e HB de 10g/dL; mas, atualmente recomenda-se que o nível-alvo do hematócrito, esteja entre 33% e 36% e o nível-alvo de hemoglobina esteja entre 11g/dL a 12g/dL, por estarem associados à maior sobrevida dos pacientes em diálise, diminuição da hipertrofia ventricular, melhor qualidade de vida e melhor capacidade de exercício. A normalização do hematócrito de pacientes portadores de insuficiência renal crônica, não está sendo indicada, por falta de evidências comprobatórias a respeito da segurança de tal procedimento¹. Os níveis mencionados acima foram adotados em concordância com os estabelecidos pelo NKF-DOQI¹⁵. A portaria 437, de 8 de outubro de 2001, da Secretaria de Assistência à Saúde, órgão do Ministério da Saúde, também recomenda esses valores⁵.

Dos 15 pacientes em estudo, 7 receberam eritropoetina sem interrupção e 8 sofreram interrupções no tratamento. Observou-se uma crescente diminuição nas doses mensais de eritropoetina administradas nos pacientes. Essa queda foi mais acentuada no 3º trimestre (grupo C) onde administram-se 26 doses das 45 possíveis (ver *n* na Tab. I). A diminuição significa que os pacientes receberam menos eritropoetina e portanto, no aspecto geral, apresentaram alguma melhora em relação à anemia do ponto de vista clínico. No entanto, um aumento na dose média observada no 3º e 4º trimestres reflete uma possível resistência ao tratamento, isso porque, as doses em U de alguns pacientes foram aumentadas (ver dose média e valor máximo na Tab. I). Essa resistência pode ser uma das causas de os níveis-alvos não terem sido alcançados em alguns pacientes e esse fato interferiu no resultado final.

Ao analisarmos os parâmetros da contagem de eritrócitos e hemoglobina no início do estudo, observamos eritrócitos com média de 2,680 milhões/mm³ e hemoglobina de 8,2g/dL. É claro o quadro de anemia dos pacientes com insuficiência renal crônica. O uso da rHuEPO durante o estudo, na média, não aumentou significativamente o número de eritrócitos nem a hemoglobina dos pacientes, entretanto, esses se mantiveram estáveis (Tab. III). O nível-alvo da hemoglobina (10g/dL) foi atingido em 5 dos 15 pacientes estudados.

Para o "típico" ser humano de 70 kg, cada unidade de concentrado de hemácias deverá elevar o hematócrito em 3 a 5% ou a hemoglobina em 1,0 a 1,5g/dL¹². O paciente renal crônico tem perdas anuais de sangue em torno de um a 4 litros e, embora haja perdas, o tratamento com a rHuEPO, fez com que o número de eritrócitos e a hemoglobina permanecessem estáveis. Durante o tratamento, nenhum paciente necessitou de hemotransfusão, um fato comum entre os pacientes antes do tratamento com rHuEPO.

A análise estatística da determinação do hematócrito mostrou uma diferença significativa ($p < 0.05$), com valores maiores do hematócrito, do 1º para o 2º trimestre (Tab. III). O nível-alvo do hematócrito (30%) foi atingido em 5 dos 15 pacientes estudados. Como houve uma melhora da anemia em alguns pacientes, o tratamento com eritropoeti-

na foi interrompido e, então, os valores do hematócrito retornaram aos níveis iniciais, embora com valores maiores, pois o 3º e 4º trimestres não foram estatisticamente diferentes do 2º trimestre (Tab. III). Esse fato é descrito na literatura, pois o tratamento com a rHuEPO é efetivo contra a anemia em pacientes hemodializados com insuficiência renal crônica e a descontinuação na terapia, é usualmente seguida, por uma queda no valor do hematócrito, para níveis do pré-tratamento²¹.

A análise estatística mostrou que o VCM teve um aumento significativo do 1º para o 2º semestre e permaneceu com valores sempre significativamente superiores, em relação ao 1º trimestre (Tab. III). O VCM com valores maiores mostra que houve um aumento no tamanho dos eritrócitos, mas não podemos considerar uma macrocitose (maior que 100 fL). Adicionalmente, verificamos que durante o tratamento, os pacientes receberam suplementos vitamínicos, incluindo vitamina B12 e ácido fólico.

Com o aumento significativo observado no VCM poderia-se questionar o aumento observado no HT. Parece que o hematócrito aumentou porque o tamanho das hemácias aumentou; isso, porque o número de eritrócitos não aumentou significativamente (Tab. III). Observando-se os valores individuais do VCM das 45 determinações efetuadas a cada trimestre verificamos que:

- a) no primeiro trimestre em nenhuma delas o VCM foi superior a 100 fL;
- b) no segundo trimestre só em duas determinações o VCM foi superior com média de 103,3 fL;
- c) no terceiro trimestre, também, em duas determinações o VCM foi superior com média de 102,6 fL; e
- d) no quarto trimestre em quatro determinações o VCM foi superior com média de 102,1 fL.

Dessa forma o VCM demonstra ter aumentado, porque, de uma forma geral, as hemácias aumentaram de tamanho, sem que os pacientes apresentassem macrocitose importante.

O aumento no VCM é relatado em pacientes que utilizam a rHuEPO. A EPO abrevia o tempo necessário para que novas hemácias sejam formadas, omitindo divisões celulares durante a maturação e fazendo com que os reticulócitos entrem na circulação, como resultado, hemácias grandes podem ser observadas¹⁷. Adicionalmente foi relatada a presença de anisocitose na leitura dos esfregaços sanguíneos.

Correlacionando o valor do HT com o VCM dos eritrócitos, podemos verificar que o aumento do hematócrito possa não ser verdadeiro, já que o número de eritrócitos não aumentou. Podemos concluir que, embora haja variação significativa no valor do hematócrito, esse aumento poderia não contribuir para uma melhor oxigenação do sangue, uma vez que a HB permaneceu constante.

A literatura adverte que pode existir um erro inerente na determinação do hematócrito, tanto pelo micro como pelo macrométodo. Um pequeno volume da coluna de hemácias é plasma aprisionado, e essa quantidade geralmente fica no intervalo de 1 a 3% do volume e não tem importância clínica. No caso

de hemácias anormais o aprisionamento de plasma pode responder por até 6% do volume celular¹³. Na insuficiência renal ocorrem alterações plasmáticas nas hemácias e é comum a presença de equinocitose nos esfregaços sanguíneos. Devemos tomar cuidado ao avaliar os níveis de anemia levando em conta apenas o valor do hematócrito¹¹.

Com relação ao HCM, não houve diferença estatisticamente significativa quando os 4 trimestres foram comparados, semelhante ao que ocorreu com o nível de hemoglobina, quando o HCM permaneceu constante durante todo o estudo (Tab. III).

Analisando a concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM), observamos uma redução estatisticamente significativa do 1º para o 2º, 3º e 4º trimestres (Tab. III). A queda significativa na CHCM pode estar refletindo o aumento no tamanho das hemácias, já que o VCM e o HT apresentaram diferença estatisticamente significativa com valores aumentados.

O RDW (*red blood cell distribution width* = amplitude de distribuição dos eritrócitos) serve para avaliar a variação do tamanho dos glóbulos vermelhos, quando os valores normais estão entre 11,5 e 14,5 %. A análise estatística não mostrou diferença significativa nesse parâmetro.

Observando os dados, verificamos que o valor do RDW permaneceu em torno de 14% no período de 12 meses. No entanto, se observarmos o desvio-padrão, verificamos que alguns pacientes possuem o RDW aumentado (Tab III). Nas contagens fornecidas por instrumentos automatizados, um aumento do RDW é indicativo de anisocitose⁴. Esse fato foi observado nas extensões sanguíneas. A anisocitose pode ocorrer devido ao uso da eritropoetina, como foi comentado anteriormente.

Na anemia megaloblástica o aumento do RDW antecede o aumento do VCM⁴. Neste estudo, a análise estatística mostrou diferença significativa com valores aumentados para o VCM e não mostrou diferença significativa para o RDW. Assim, podemos concluir que o aumento no tamanho das células não deve ter sido por deficiência de vitamina B12 ou ácido fólico. Por outro lado, na carência de ferro, com aporte a eritropoese o RDW aumentaria antes de haver grande diminuição do VCM. No presente trabalho, o RDW permaneceu estatisticamente constante enquanto o VCM aumentou. Isso poderia indicar que os pacientes não apresentavam deficiência de ferro (Tab. II), pois, na deficiência de ferro, o VCM estaria diminuindo.

No presente estudo, após monitorar a anemia de 15 pacientes com insuficiência renal crônica durante o período de 12 meses, através da análise dos dados obtidos do eritrograma, concluímos que:

1) a contagem de eritrócitos, a hemoglobina, HCM e RDW se mantiveram estáveis ($P > 0.05$);

2) o hematócrito aumentou significativamente do primeiro para o segundo trimestre ($P < 0.05$), e com as reduções nas doses de rHuEPO, os valores retornaram para os níveis iniciais, embora ligeiramente elevados;

3) o VCM aumentou significativamente

($P < 0.01$) do primeiro para o segundo trimestre e permaneceu elevado no terceiro ($P < 0.001$) e no quarto trimestre ($P < 0.05$);

4) o HCCM diminuiu ($P < 0.001$) do primeiro para o segundo trimestre e permaneceu assim nos demais trimestres.

Desse modo, observou-se que no monitoramento da anemia em pacientes com insuficiência renal crônica, todos os parâmetros do eritrograma devem ser considerados, para que se possa melhor controlar a anemia e ajustar a dose de eritropoetina a ser administrada.

REFERÊNCIAS

1. Abensur, H. Níveis-alvo de hematócrito e hemoglobina com o emprego de eritropoetina. *J Bras Nefrol.* v. 22, s.5, p. 28, 2000.
2. Abrahão, S. F.; Souto, R. B.; Azevedo, W. M. Eritropoetina recombinante humana (rHuEPO): primeiro relato de uso clínico no Brasil. *Folha Med.* v. 99, n.2, p. 65-68, 1989
3. Aires, M. M. Fisiologia. 2ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 934 p., 1999.
4. Bain, B. J. Células Sanguíneas. 2ª ed. Porto Alegre. Artes Médicas. 334 p., 1997.
5. Brasil, Ministério da Saúde. Tratamento da anemia em pacientes portadores de insuficiência renal crônica. Secretaria de Assistência à Saúde. Portaria número 437, 8 out., 2001.
6. Canziani, M. E. F. Complicações da anemia na insuficiência renal crônica. *J. Bras Nefrol.* São Paulo, v.22, s.5, p.13-14, 2000.
7. Castro, M. C. M. Diagnóstico da deficiência de ferro. *J Bras Nefrol.* v. 22, s.5, p. 15-16, 2000.
8. Eschbach, J. W. Current concepts of anemia management in chronic renal failure: impact of KKF-DOQI. *Semin Nephrol.* v. 20, n.4, p.320-329, 2000.
9. Eschbach, J. W.; Adamson, J. W. Recombinant human erythropoietin: Implications for nephrology. *Am J Kidney Dis.* v. 11, n.3, p.203-9, 1988.
10. Eschbach, J. W.; Egie, J. C.; Downing, M.R. *et al.* Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. Results of a combined phase I and II clinical trial. *N Engl J Med.* v. 316, n.2, p.73-8, 1987.
11. Failace, R. Hemograma manual de interpretação. 3ª ed. Porto Alegre. Artes Médicas. 198 p., 1995.
12. Harmering, D. Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão. 2ª ed. São Paulo. Revinter. 445 p., 1992.
13. Lee, G. R.; Bithell, T.C.; Foerster, J. *et al.* Hematologia clínica de Wintrobe. São Paulo. Manole, 2624 p. 2v., 1998.
14. Lugon, J. R. Fisiopatologia da anemia na insuficiência renal crônica. *J Bras Nefrol.* v. 22, s.5, p. 13-14, 2000.
15. NKF-DOQI clinical practice guidelines for the treatment of anemia of chronic renal failure. National Kidney Foundation-Dialysis Outcomes Quality Initiative. *Am J Kidney Dis.* v. 30, n.3, 1997.
16. Pinevich, A.J.; Peterson, J. Erythropoietin therapy in patients with chronic renal failure. *Western Journal of Medicine.* v. 157, p. 154-157, 1992.
17. Rapaport, S.I. Introdução à hematologia. 2ª ed. São Paulo. Roca. 450 p., 1990.
18. Sociedade Brasileira de Nefrologia. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Nefrologia para a condução da anemia na insuficiência renal crônica. *J Bras Nefrol.* v. 22, s.5, p.1-48, 2000.
19. Tong, E.M.; Nissenson, A.R. Erythropoietin and anemia. *Semin Nephrol.* v.21, n.2, p.190-203, 2001.
20. Tsakiris, D. Morbidity and mortality reduction associated with the use of erythropoietin. *Nephron.* v.85, p. 2-8, 2000.
21. Yabana, M.; Ikeda, Y.; Kihara, M. *et al.* Good response of endogenous erythropoietin to blood loss in persistently improving renal anemia after discontinuation of erythropoietin treatment. *Nephron.* v. 81, p.111-112, 1999.

Endereço para correspondência

Prof. Dr. Luís Antônio Esmerino

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Campus Uvaranas - Depto. de Análises Clínicas e Toxicológicas

Av. Carlos Cavalcante, 4748 - sala 92

Ponta Grossa, PR - 80030-000

E-mail: esmerino@uepg.br

Efeito do consumo de diferentes tipos de óleos sobre o perfil de lipídios plasmáticos de pacientes normocolesterolêmicos com artrite reumatóide

Effects of different kind of oils on lipids profile from normocholesterolemic rheumatoid arthritis patients

Alair Alfredo Berbert¹; Juliana Geraix²; Clísia M. Correia²; Cecília Lisete Almendra³; Cacilda Rosa Miiko Kondo³; Glenys Mabel Caballero-Córdoba⁴; Tiemi Matsuo⁵ & Isaías Dichi⁶

RESUMO – O aumento do colesterol plasmático total e, especialmente, de sua fração LDL-colesterol constituem fatores fundamentais no desenvolvimento do risco de doenças cardiovasculares. O uso de determinados tipos de óleos altera a composição dos lipídeos plasmáticos. Com o objetivo de verificar o efeito dos diferentes tipos de óleo sobre o perfil lipídico de pacientes normocolesterolêmicos com artrite reumatóide foram estudados 43 pacientes, com idade média de 49 ± 12 anos, sendo 34 pacientes do sexo feminino e 9 pacientes do sexo masculino. Os pacientes foram divididos em três grupos: grupo 1 que recebeu 20 cápsulas diárias de 500mg de óleo de soja, grupo 2 que recebeu 20 cápsulas diárias de 500 mg de óleo de peixe e o grupo 3 que recebeu além do óleo de peixe 9,6 ml de óleo de oliva em flaconetes e foi solicitada a substituição do óleo de sua alimentação diária por óleo de canola. A avaliação laboratorial foi realizada mediante glicemia e colesterol plasmático total e suas frações LDL-colesterol, HDL-colesterol e triacilglicerol e a avaliação nutricional mediante peso, índice de massa corpórea e inquérito alimentar. Os pacientes foram avaliados no início do estudo e após 12 e 24 semanas. Verificou-se após 12 semanas de estudo diminuição significativa ($p < 0,05$) do colesterol total no grupo 1 em relação ao grupo 2, e também diminuição significativa ($p < 0,05$) do LDL-colesterol do grupo 1 quando comparado aos grupos 2 e 3. Entretanto, não houve diferença significativa entre os grupos após 24 semanas de estudo. O grupo 3 apresentou maior peso, índice de massa corpórea e ingestão energética total que os demais grupos, mas os resultados não foram significativos. Em conclusão, o uso de óleo de soja parece ser uma opção para pacientes que necessitam diminuir os níveis de colesterol plasmático.

PALAVRAS-CHAVE – Colesterol plasmático, óleo de soja, óleo de oliva, óleo de canola, óleo de peixe.

SUMMARY – The increase in total plasmatic cholesterol, and especially in LDL-cholesterol is considered a fundamental risk factor for the development of cardiovascular disease. The use of some kind of oils changes the composition of plasmatic lipids. The objective of the present work was to verify the effects of different kind of oils on lipids profile of 43 normocholesterolemic rheumatoid arthritis patients, mean age 49 ± 12 years, 34 females and 9 males. The patients were divided in three groups: group 1 that received soybean oil (20 capsules of 500 mg/day), group 2 that received fish oil (20 capsules of 500 mg/day), and group 3 that received fish oil, 9.6 ml of olive oil and canola instead of the usual oil they used to prepare food. Laboratory assessment was performed through blood glucose level, and total plasmatic cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and triacylglycerol, and nutritional assessment was done by weight, body mass index, and 24-h dietary recall. Patients were evaluated at the beginning of the study, and after 12 and 24 weeks. After 12 weeks, group 1 showed statistically significant decrease ($p < 0.05$) in total cholesterol when compared to group 2, and it was also verified a statistically significant decrease ($p < 0.05$) in LDL-cholesterol in group 1 when compared to groups 2 and 3. However, there was no statistically significant difference between the groups after 24 weeks. Group 3 showed a higher weight, higher body mass index, and had a higher total energetic ingestion than the other groups. In conclusion, the use of soybean oil seems to be an option for patients who need to decrease total plasmatic cholesterol and LDL-cholesterol.

KEYWORDS – Total plasma cholesterol, soybean oil, olive oil, canola oil, fish oil.

INTRODUÇÃO

A diminuição do risco de doenças cardiovasculares mediante alterações nos hábitos de vida, inclusive nos hábitos alimentares, vem sendo perseguida de longa data. Um dos fatores mais importantes de risco cardiovascular é a alteração nos lipídeos plasmáticos, e alterações dietéticas que promovam, principalmente, diminuição do colesterol plasmático total e da fração lipoproteína de densidade baixa (LDL-colesterol) são recomendadas (Krauss *et al.* 2000).

Os óleos vegetais cumprem importante papel na ten-

tativa de diminuição de risco de doenças cardiovasculares e, idealmente, a sua composição deveria conter concentração reduzida de gordura saturada e de ácidos graxos poliinsaturados tipo trans, concentração elevada de ácidos graxos poliinsaturados tipo cis e de ácidos graxos poliinsaturados ω -3 e também ser rica em monoinsaturados (Baylin *et al.*, 2003; Hu, 2001). Entretanto, ainda existem dúvidas com relação ao tipo preferencial de ácidos graxos poliinsaturados presentes no óleo vegetal, se ω -3 ou ω -6, e seus efeitos sobre o perfil de lipídios plasmáticos.

O óleo de canola apresenta em sua composição quan-

Recebido em 05/5/2003

Aprovado em 28/10/2003

¹Médico e Farmacêutico-Bioquímico do Departamento de Patologia Aplicada Legislação e Deontologia da Universidade Estadual de Londrina. Mestre em Medicina

²Nutricionistas estagiárias do setor de Moléstias Infeciosas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

³Médicas do Departamento de Clínica Médica da Universidade Estadual de Londrina - Mestres em Medicina

⁴Nutricionista do Departamento de Nutrição – Doutora em Nutrição – Universidade José do Patrocínio – Itú

⁵Matemática do Departamento de Matemática Aplicada da Universidade Estadual de Londrina - Doutora em Estatística

⁶Médico do Departamento de Clínica Médica da Universidade Estadual de Londrina - Doutor em Clínica Médica

tidade elevada de monoinsaturados e de ácidos graxos poliinsaturados ω -3 (ácido α -linolênico), sendo atualmente um dos óleos mais recomendados para a prevenção de doenças cardiovasculares (de Lorgeril *et al.*, 1994; Hu, 2001). O óleo de oliva por possuir a maior quantidade de monoinsaturados ω -9 (ácido oléico), também é bastante preconizado, porém seu alto custo muitas vezes impede a sua utilização. O óleo de soja apresenta quantidade elevada de ácidos graxos poliinsaturados ω -6 na forma *cis* e também apresenta quantidade substancial de ácido α -linolênico (Hu, 2001). Há na literatura trabalhos relatando diminuição do colesterol plasmático e da fração LDL-colesterol com o uso de alimentos contendo esteróides, que são isolados principalmente do óleo de soja (Almedigen *et al.*, 1995; Vanhanen *et al.*, 1993; Westrate & Meijer, 1998).

Por outro lado, os ácidos graxos ω -3 de óleo de peixe têm como efeito principal sobre o metabolismo lipídico, a redução da síntese de lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) hepática, diminuindo conseqüentemente os níveis de triacilglicerol (Chan *et al.*, 2003; Simopoulos, 1999). Entretanto, quantidades maiores que 3g/dia deste óleo pode ser causa de aumento dos níveis plasmáticos de colesterol total e de LDL colesterol (Katan, 1995).

Assim, o objetivo do presente trabalho é verificar o efeito dos diferentes tipos de óleo sobre o perfil lipídico de pacientes normocolesterolêmicos com artrite reumatóide.

PACIENTES E MÉTODOS

O presente estudo é parte do trabalho sobre avaliação da atividade inflamatória com diferentes tipos de ácidos graxos em pacientes com artrite reumatóide.

Foram avaliados 43 pacientes adultos com artrite reumatóide, soropositivos para o fator reumatóide, atendidos no Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Londrina.

A avaliação clínica constou de anamnese, exame físico completo e os seguintes exames laboratoriais: glicemia, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triacilglicerol. As amostras foram processadas em um autoanalisador bioquímico Dimension AR (Dade, EUA). Foram colhidos cerca de 13ml de sangue: 3ml em tubos com fluoreto de sódio e EDTA e 10ml em tubos sem anticoagulante, pelo sistema a vácuo, de cada paciente em momentos distintos do trabalho.

A avaliação nutricional constou da medida de peso, altura e cálculo do índice de massa corpórea (P/h^2). Além disso, foi realizado inquérito alimentar de 24 horas.

Quanto ao protocolo terapêutico, prescreveram-se 20 cápsulas diárias de 500mg de óleo de soja ou de óleo de peixe, divididas em duas tomadas de 10 cápsulas durante o café da manhã e jantar. Cada cápsula de óleo de peixe continha 90mg de ácido eicosapentaenóico (EPA) e 60mg de ácido docosahexaenóico (DHA), perfazendo o total de 3,0g de ácidos graxos ω 3/dia. A verificação de adesão ao tratamento foi realizada mediante a contagem das cápsulas restantes, verificadas no retorno mensal dos pacientes. Alguns pacientes fizeram uso de 6,8g de ácido oléico, e além disso substituíram o óleo de sua alimentação por óleo de canola. O ácido oléico foi dado na forma de flaconetes contendo 9.6mL de azeite de oliva que foi adicionado às saladas. A composição dos óleos utilizados encontra-se na Tab.I.

Durante o estudo, os pacientes fizeram uso regular de corticosteróides (prednisona 5 a 10mg) e um ou mais medicamentos modificadores da doença de base (cloquima e/ou sulfassalazina e/ou metotrexate) que foram mantidos durante todo o tratamento.

TABELA I
Composição dos óleos

Principais fontes	Composição percentual		
	ω -3	ω -6	ω -9
Soja	7	54	24
Canola	11	28	60
Oliva	Traços	10	71
Peixe	37	1	12

Todos os pacientes que participaram do protocolo foram informados sobre os procedimentos a que seriam submetidos e assinaram documento concordando com a realização do estudo. Todo o protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná.

Delineamento

Este estudo longitudinal, randomizado, teve duração de 24 semanas. Foram estudados 43 pacientes divididos em três grupos: grupo G1 com 13 pacientes, grupo G2 com 13 pacientes e o grupo G3 com 17 pacientes. O grupo G1 recebeu 20 cápsulas de óleo de soja, o grupo G2 recebeu 3g de ácidos graxos poliinsaturados, ω 3 de óleo de peixe, enquanto que o grupo G3 recebeu, além de 3g de ácidos graxos, ω 3 de óleo de peixe, flaconetes com 9,6mL de óleo de oliva extra virgem contendo 6,8g de ácido oléico, sendo também solicitado substituição do óleo de sua alimentação diária por óleo de canola. Realizou-se a avaliação laboratorial e nutricional dos parâmetros estudados no início do estudo e a seguir após 12 e 24 semanas.

Análise estatística

Os resultados foram descritos através da média e desvio-padrão.

Para avaliar a homogeneidade da distribuição da idade, sexo, escolaridade, duração da doença e número de medicamentos que os pacientes faziam vão nos grupos de estudo empregou-se o teste exato de Fisher (Hollander M., Wolf D. A., 1973).

A análise estatística avaliou as possíveis associações dos parâmetros estudados com os seus respectivos grupos.

As variáveis foram mensuradas em três momentos: início do estudo, 12 e 24 semanas. Os dados foram avaliados em variação percentual das avaliações em relação a mensuração inicial. Para a descrição das variáveis foram utilizados média e desvio-padrão. Para avaliar as hipóteses formuladas no planejamento do estudo aplicou-se a técnica de análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas com um fator de classificação.

Em relação aos grupos de estudo, a hipótese nula (H_0) do estudo afirma que as médias dos grupos são iguais e a hipótese alternativa (H_1) que pelo menos duas médias não são iguais. Nos casos em que a hipótese nula foi rejeitada, empregou-se o teste de Scheffé para a comparação das médias dos grupos duas a duas. Em relação às avaliações, a hipótese nula (H_0) do estudo afirma que as médias das avaliações são iguais e a hipótese alternativa (H_1) que as médias das avaliações não são iguais.

Algumas variáveis sofreram transformação na escala para adequação dos pressupostos de normalidade dos dados e homogeneidade das variâncias para aplicação da técnica de análise de variância (Horgan, G.H., 2001) tais como LDL-colesterol e triacilglicerol.

Os testes foram realizados em nível de significância de 5%, ou seja, os testes foram considerados significativos quando valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

A distribuição da média de idade e desvio-padrão (anos) dos pacientes de acordo com os grupos de estudo foi homogênea ($p=0,659$) de $47,8 \pm 10,3$ anos no grupo 1, $50,8 \pm 13,2$ no grupo 2 e $50,5 \pm 12,9$ no grupo 3. Com relação ao sexo, havia 34 pacientes do sexo feminino (79,1%) e 9 pacientes do sexo masculino (20,9%), com distribuição homogênea entre os grupos de estudo ($p=0,713$). A maioria dos pacientes (79,1%) era analfabeta ou havia cursado apenas o 1º grau. A duração da doença apresentou distribuição homogênea ($p=0,691$) entre os grupos: o grupo 1 com duração média de $15,1 \pm 10,9$ anos, o grupo 2 com $14,6 \pm 12,1$ anos e o grupo 3 com $15,6 \pm 9,6$ anos. Com relação à distribuição do número de medicamentos de base dos pacientes com artrite reumatóide de acordo com os grupos de estudo, também esta se mostrou homogênea ($p=0,461$).

Dos exames laboratoriais, houve alterações estatisticamente significativas apenas nos níveis sanguíneos de colesterol total e LDL-colesterol (Tab.II). Verificou-se diminuição significativa do colesterol total no grupo 1 em relação ao grupo 2 após 12 semanas de estudo. Houve também diminuição significativa de LDL-colesterol do grupo 1 quando comparado aos grupos 2 e 3 após 12 semanas de estudo. Entretanto, após 24 semanas de estudo não houve diferença significativa entre os grupos. Verificou-se diminuição contínua dos valores sanguíneos de triacilglicerol no grupo 2 durante todo o estudo (Tab.II), apesar destes resultados não terem sido estatisticamente significativos.

Apesar dos pacientes do grupo 3 terem apresentado maior peso e índice de massa corpórea após 12 e 24 semanas quando comparado aos valores iniciais, não houve diferença significativa entre os grupos (Tab.III). Com relação à ingestão energética total, não houve alterações significativas entre os grupos. Entretanto, a ingestão energética total do grupo 3 após 24 semanas mostrou resultados superiores aos demais grupos (Tab.III). Verificou-se também que o grupo 3 apresentou maior ingestão de gordura total e de gordura insaturada do que os demais grupos, porém estes resultados não foram estatisticamente significativos (Tab.III).

TABELA II

Avaliação (média e desvio-padrão) dos níveis de glicemia, colesterol-total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triacilglicerol dos pacientes com artrite reumatóide nos grupos G1 (óleo de soja), G2 (ácidos graxos ω -3 de óleo de peixe) e G3 (ácidos graxos ω -3 e ácido oléico) nos três momentos do estudo

Parâmetros	Momentos			
	Grupos	Basal	12 semanas	24 semanas
Glicemia (mg/dL)	1	107 $\pm$ 86	98 $\pm$ 58	92 $\pm$ 25
	2	104 $\pm$ 74	94 $\pm$ 43	99 $\pm$ 58
	3	97 $\pm$ 29	101 $\pm$ 46	102 $\pm$ 64
Colesterol Total (mg/dL)	1	180 $\pm$ 38	162 $\pm$ 37 ^a	186 $\pm$ 46
	2	180 $\pm$ 28	192 $\pm$ 42	185 $\pm$ 37
	3	186 $\pm$ 46	186 $\pm$ 44	192 $\pm$ 44
HDL-colesterol (mg/dL)	1	57 $\pm$ 16	52 $\pm$ 21	52 $\pm$ 19
	2	50 $\pm$ 13	46 $\pm$ 13	41 $\pm$ 13
	3	47 $\pm$ 12	43 $\pm$ 8	46 $\pm$ 8
LDL-colesterol (mg/dL)	1	104 $\pm$ 29	91 $\pm$ 23 ^{a,b}	114 $\pm$ 35
	2	110 $\pm$ 23	127 $\pm$ 34	129 $\pm$ 29
	3	121 $\pm$ 39	127 $\pm$ 38	126 $\pm$ 39
Triacilglicerol (mg/dL)	1	92 $\pm$ 40	99 $\pm$ 55	83 $\pm$ 35
	2	105 $\pm$ 45	89 $\pm$ 36	82 $\pm$ 37
	3	94 $\pm$ 58	89 $\pm$ 52	91 $\pm$ 45

^adiferença significativa ($\alpha: 0,05$) das diferenças percentuais no momento basal e após 12 semanas entre os grupos 1 e 2; ^bdiferença significativa ($\alpha: 0,05$) das diferenças percentuais no momento basal e após 12 semanas entre os grupos 1 e 3.

TABELA III

Avaliação (média e desvio-padrão) do peso, índice de massa corpórea (IMC), ingestão energética total, ingestão de gordura total, ingestão de gordura insaturada e saturada dos pacientes com artrite reumatóide nos grupos G1 (óleo de soja), G2 (ácidos graxos ω -3 de óleo de peixe) e G3 (ácidos graxos ω -3 e ácido oléico) nos três momentos do estudo

Parâmetros	Momentos			
	Grupos	Basal	12 semanas	24 semanas
Peso (Kg)	1	63 $\pm$ 14	61 $\pm$ 14	62 $\pm$ 14
	2	74 $\pm$ 13	74 $\pm$ 14	74 $\pm$ 13
	3	60 $\pm$ 14	63 $\pm$ 11	63 $\pm$ 11
IMC (Kg/m ²)	1	25 $\pm$ 5	24 $\pm$ 5	24 $\pm$ 5
	2	29 $\pm$ 5	29 $\pm$ 5	29 $\pm$ 5
	3	26 $\pm$ 5	27 $\pm$ 4	27 $\pm$ 4
Ingestão energética Total (Kcal/dia)	1	1888 $\pm$ 797	1629 $\pm$ 566	1792 $\pm$ 582
	2	1617 $\pm$ 770	1584 $\pm$ 577	1534 $\pm$ 584
	3	1661 $\pm$ 632	1652 $\pm$ 620	1993 $\pm$ 882
Ingestão de gordura Total (% do VCT*)	1	30 $\pm$ 11	33 $\pm$ 7	31 $\pm$ 9
	2	33 $\pm$ 12	28 $\pm$ 9	34 $\pm$ 7
	3	34 $\pm$ 11	34 $\pm$ 10	38 $\pm$ 11
Ingestão de gordura Insaturada (% da gordura total)	1	53 $\pm$ 14	46 $\pm$ 10	49 $\pm$ 12
	2	56 $\pm$ 13	52 $\pm$ 13	52 $\pm$ 11
	3	58 $\pm$ 14	59 $\pm$ 13	58 $\pm$ 10
Ingestão de gordura Saturada (% da gordura total)	1	48 $\pm$ 14	54 $\pm$ 10	51 $\pm$ 12
	2	44 $\pm$ 13	48 $\pm$ 13	48 $\pm$ 11
	3	42 $\pm$ 14	41 $\pm$ 13	42 $\pm$ 10

* VCT = valor calórico total

DISCUSSÃO

Os pacientes do presente trabalho mostraram respostas diferentes à suplementação com os diversos tipos de óleos ricos em gordura poliinsaturada e/ou monoinsaturada utilizados.

Há relatos na literatura de aumento da glicemia em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 fazendo uso de doses superiores a 3g de óleo de peixe/dia (Woodman *et al.*, 2002) e também em indivíduos com glicemia normal (Luostarinen *et al.*, 1995). No presente trabalho, não houve alteração nos níveis glicêmicos médios de nossos pacientes que se mantiveram dentro dos níveis normais durante o estudo.

Verificou-se diminuição de colesterol total após 12 semanas de estudo nos pacientes que fizeram uso de óleo de soja (G1) quando comparados aos pacientes que usaram óleo de peixe (G2). Esta redução ocorreu mesmo estando os níveis de colesterol total dentro de valores considerados normais, ou seja abaixo de 200mg/dL. Além disso, houve diminuição dos níveis de LDL-colesterol após 12 semanas nos pacientes que fizeram uso de óleo de soja quando comparados aos pacientes que usaram óleo de peixe e também quando comparados aos pacientes que fizeram uso da associação de óleo de peixe com óleo de canola e azeite de oliva. (G3).

Embora haja literatura extensa sobre a redução dos níveis de colesterol total e LDL-colesterol com uso de proteína de soja e/ou isoflavonas (Anderson *et al.*, 1995; Setchell & Cassidy, 1999), o número de trabalhos que relatam diminuição dos níveis de colesterol total e LDL-colesterol com uso de óleo de soja é bem menor.

Lichtenstein *et al.* (1999) verificaram diminuição de 12% e 3% nos níveis de LDL-colesterol e HDL-colesterol, respectivamente, em pacientes com LDL-colesterol acima de 130mg/dL usando óleo de soja durante 35 dias. O presente trabalho mostrou resultados bastante semelhantes no G1 com redução de 12,5% e 8% nos níveis de LDL-colesterol e HDL-colesterol, respectivamente, após 12 semanas de estudo. A diminuição dos níveis sanguíneos de colesterol é atribuível, pelo menos em parte, à inibição da absorção de colesterol pelo óleo de soja (Lichtenstein *et al.*, 2001).

A redução significativa do colesterol total e do LDL-colesterol do G1 com relação ao G2 também deve ser atribuída

buída à ingestão de ácidos graxos poliinsaturados ω -3 de óleo de peixe no G2. Há na literatura inúmeros relatos de aumento de colesterol-total e LDL-colesterol em indivíduos suplementados com quantidades iguais ou superiores a 2,5g de óleo de peixe diário (de Deckere, 1998; Puiggrós *et al.*, 2002) ou relacionado à maior ingestão alimentar de ácidos graxos poliinsaturados ω -3 de óleo de peixe (Dewailly *et al.*, 2001). O mecanismo exato para explicar este aumento é desconhecido. É possível que os ácidos graxos ω -3 aumentem a susceptibilidade da VLDL à ação da lipase lipoprotéica e/ou à lipólise mediada pela lipase hepática e, portanto, aumente a produção de LDL a partir da VLDL (Uay & Valenzuela, 2000). A diminuição da oxidação do LDL-colesterol com a utilização de ácido oléico é um dos aspectos mais salientados na diminuição de incidência de doenças cardiovasculares verificada com a dieta do mediterrâneo (Yaqoob *et al.*, 1998).

Os efeitos protetores cardiovasculares que o óleo de peixe propicia parecem estar além de seus efeitos sobre o perfil das lipoproteínas, uma vez que o seu único efeito benéfico relacionado às mesmas é a diminuição dos níveis de triacilglicerol (Krauss *et al.*, 2000). Os outros efeitos benéficos incluem diminuição de morte súbita (Albert *et al.*, 2002; Leaf & Chang, 19%; Lemaitre *et al.*, 2003), risco diminuído de arritmias cardíacas (Christensen *et al.*, 1995; Sellmayer *et al.*, 1995) e tendência à diminuição da coagulação (Agren *et al.*, 1997). Apesar da redução de 16% e 22% dos níveis de triacilglicerol no G2 após 12 e 24 semanas de estudo, respectivamente, quando comparados aos valores iniciais, estes valores não foram significativos quando comparados às alterações dos outros grupos.

Por outro lado, a presença de ácidos graxos monoinsaturados (ácido oléico) no azeite de oliva e no óleo de canola no G3 parece ter conferido um efeito protetor em relação ao aumento do colesterol total verificado no G2 com uso isolado de óleo de peixe. Entretanto, isto não ocorreu com o LDL-colesterol que mostrou aumento significativo de seus níveis no G2 e G3 em relação ao G1 após 12 semanas de estudo.

O aumento de peso e do índice de massa corpóreo apresentado pelos pacientes do grupo 3, após 24 semanas de estudo, pode ser justificado pela maior ingestão energética total, provavelmente em decorrência da maior quantidade de gordura total ingerida.

Durante todo o estudo, os pacientes permaneceram usando a mesma dose dos medicamentos modificadores da doença de base e também fizeram uso regular da mesma dose de corticosteróides (prednisona 5 a 10mg) que vinham fazendo. No presente trabalho, a pequena dose de corticosteróides utilizada, aliada ao fato desta dose ter se mantido inalterada durante o estudo, deve ter contribuído para minimizar o efeito da corticoterapia sobre os níveis dos lipídios plasmáticos (Buchman, 2001).

Em conclusão, o uso de óleo de soja parece opção a ser considerada para pacientes que necessitem diminuir os níveis de colesterol plasmático. Mais estudos são necessários para confirmar a ação hipocolesterolêmica do óleo de soja.

AGRADECIMENTOS

À R.P. Scherer do Brasil Encapsulações Ltda. pelo fornecimento das cápsulas de óleo de soja e de óleo de peixe.

REFERÊNCIAS

1. Agren, J. J.; Valsanen, S.; Hanninen, O. *et al.* Hemostatic factors and platelet aggregation after a fish-enriched diet or fish oil or docosahexaenoic supplementation. *Prostaglandin. Leukot. Essent. Fatty Acids* 57:419-21, 1997.
2. Albert, C. M.; Campos, H.; Stampfer, M. J. *et al.* Blood levels of long-chain n-3

fatty acids and the risk of sudden death. *N. Engl. J. Med.* 346:1113-8, 2002.

3. Atmendigen, K.; Jordal, O.; Kierulf, P.; Sandsstad, B.; Pedersen, J. I. Effects of partially hydrogenated fish oil, partially hydrogenated soybean oil, and butter on serum lipoproteins and Lp(a) in men. *J. Lipid Res.* 36:1370-84, 1995.
4. Anderson, J. W.; Johnstone, B. M.; Cook-Newell, M. E. *et al.* Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N. Engl. J. Med.* 333:276-82, 1995.
5. Baylin, A.; Kabagambe, E. K.; Ascherio, A.; Spiegelman, D.; Campos, H. Adipose tissue α -linolenic acid and nonfatal acute myocardial infarction in Costa Rica. *Circulation* 107:1586-91, 2001.
6. Buchman, A. Side effects of corticosteroid therapy. *J. Clin. Gastroenterol.* 33:289-94, 2001.
7. Chan, D. C.; Watts, G. F.; Mori, T. A.; Barrett, P. H. R.; Redgrave, T. G.; Beilin, L. J. Randomized controlled trial of the effect of n-3 fatty acid supplementation on the metabolism of apolipoprotein B-100 and chylomicron remnants in men with visceral obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* 77:300-7, 2003.
8. Christensen, J. H.; Gustenhoff, P.; Eilersen, R. *et al.* N-3 fatty acids and ventricular extrasystoles in patients with ventricular tachyarrhythmias. *Nutr. Res.* 15:1-8, 1995.
9. de Deckere, E. A. M.; Korver, O.; Verschuren, P. M.; Katan, M. B. Health aspects of fish oil and n-3 polyunsaturated fatty acids from plant and marine origin. *Eur. J. Clin. Nutr.* 52:749-53, 1998.
10. de Lorgeril, M.; Renaud, S.; Mamelle, N. *et al.* Mediterranean α -linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet* 343:1454-9, 1994.
11. Dewailly, E.; Blanchet, C.; Lemieux, S. *et al.* N-3 fatty acids and cardiovascular disease risk factors among the Inuit of Nunavik. *Am. J. Clin. Nutr.* 74:464-73, 2001.
12. Hu, F. B. The balance between w-6 and w-3 fatty acids and the risk of coronary heart disease. *Nutrition* 17:741-2, 2001.
13. Katan, M. B. Fish and heart disease. *N. Engl. J. Med.* 332:1024-5, 1995.
14. Krauss, R. M.; Eckel, R. H.; Howard, B. *et al.* AHA dietary guidelines. Revision 2000: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Circulation* 102:2284-99, 2000.
15. Leaf, A. & Kang, J. X. Prevention of cardiac sudden death by n-3 fatty acids: a review of the evidence. *J. Int. Med.* 240:5-12, 1996.
16. Lemaitre, R. N.; King, I. B.; Mozaffarian, D.; Kuller, L. H.; Tracy, R. P.; Siscovick, D. S. N-3 polyunsaturated fatty acids, fatal ischemic heart disease, and nonfatal myocardial infarction in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 77:319-25, 2003.
17. Lichtenstein, A.; Ausman, L. M.; Jalbert, S. M.; Schaefer, E. J. Effects of different forms of dietary hydrogenated fats on serum lipoprotein cholesterol levels. *N. Engl. J. Med.* 340:1933-40, 1999.
18. Lichtenstein, A.; Deckelbaum, R. J. Stanol/sterol ester-containing foods and blood cholesterol levels: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism of the American Heart Association. *Circulation* 103:1177-9, 2001.
19. Luostarinen, R.; Wallin, R.; Wibell, L.; Saldeen, T. Vitamin E supplementation counteracts the fish oil-induced increase of blood glucose in humans. *Nutr. Res.* 15:953-68, 1995.
20. Puiggrós, C.; Chacón, P.; Armandans, L. I.; Clapés, J.; Planas, M. Effects of oleic-rich and omega-3-rich diets on serum lipid pattern and lipid oxidation in mildly hypercholesterolemic patients. *Clin. Nutr.* 21:79-87, 2002.
21. Sellmayer, A.; Witzgall, H.; Lorenz, R. L.; Weber, P. C. Effects of dietary fish oil on ventricular premature complexes. *Am. J. Cardiol.* 76:974-7, 1995.
22. Setchell, K. D. R. & Cassidy, A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance for human health. *J. Nutr.* 129:7585-75, 1999.
23. Simopoulos, A. P. Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 70:560S-9S, 1999.
24. Uauy, R. & Valenzuela, A. Marine Oils: the health benefits of n-3 fatty acids. *Nutrition* 16:680-4, 2000.
25. Vanhanen, H. T.; Blomqvist, S.; Ehnholm, C. *et al.* Serum cholesterol, cholesterol precursors, and plant sterols in hypercholesterolemic subjects with different apo E phenotypes during dietary sitostanol ester treatment. *J. Lipid Res.* 34:1535-44, 1993.
26. Weststrate, J. A. & Meijer, G. W. Plant-sterol enriched margarines and reduction of plasma total - and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.* 52:334-43, 1998.
27. Woodman, R. J.; Mori, T. A.; Burke, V.; Puddey, I. B.; Watts, G. F.; Beilin, L. J. Effects of purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on glycemic control, blood pressure, and serum lipids in type 2 diabetic patients with treated hypertension. *Am. J. Clin. Nutr.* 76:1007-15, 2002.
28. Yaqoob, P.; Knapper, J. A.; Webb, D. H.; Williams, C. M.; Newsholme, E. A.; Calder, P. C. Effect of olive oil on immune function in middle-aged men. *Am. J. Clin. Nutr.* 67:129-35, 1998.

Endereço para correspondência

Isaías Dichi

Depto. de Clínica Médica do CCS

Universidade Estadual de Londrina

Rua Robert Koch nº 60, Bairro Caravelaria, Londrina - Paraná - 86038-440

E-mail: dichi@sercomtel.com.br

Troponina Ic como marcador na insuficiência cardíaca*

Ic troponin as a marker in the cardiac insufficiency

Rômulo Martins Kaiser; Alan Arrieira Azambuja; Adroaldo Lunardelli & Jarbas Rodrigues de Oliveira

RESUMO – A troponina I cardíaca representa um marcador vastamente utilizado na prática clínica para a avaliação de síndromes coronarianas agudas. O emprego da troponina I cardíaca (cTnI) como um marcador para a insuficiência cardíaca, em suas diversas formas de apresentação, tem sido alvo de pesquisas recentes. O intento do estudo é avaliar os valores de troponina I cardíaca em pacientes com diagnóstico de insuficiência cardíaca – através de quimioiluminescência – de pacientes controle e pacientes com diagnóstico de insuficiência cardíaca. Nossos resultados mostraram que a troponina I cardíaca apresentou-se acima do ponto de corte (1,0ng/mL) em 10% dos pacientes com insuficiência cardíaca. A troponina I cardíaca sugere ser um potencial marcador bioquímico nos pacientes com insuficiência cardíaca, contribuindo assim para o diagnóstico da lesão miocárdica e o acompanhamento clínico.

PALAVRAS-CHAVE – Troponina, troponina I cardíaca, insuficiência cardíaca.

SUMMARY – Cardiac troponin I is widely used as a marker in clinical medicine in the assessment of acute coronary conditions. The use of cardiac troponin I (cTnI) as a marker for cardiac insufficiency in the many forms in which it occurs, has been the object of recent research. The aim of the present study is to assess the values of cardiac troponin I in patients diagnosed as having cardiac insufficiency – by means of chemoluminescence – of control patients and diagnosed as having cardiac insufficiency. Our results demonstrate that cardiac troponin I was above the cut off (1.0ng/mL) in 10% of patients with cardiac insufficiency. Cardiac troponin I would seem to be a potential biochemical marker for patients with cardiac insufficiency, contributing to the diagnosis of the myocardial lesion and the clinical attendance.

KEYWORDS – Troponin, troponin I cardiac insufficiency.

INTRODUÇÃO

As troponinas são proteínas contidas nas células musculares do aparelho miofibrilar das células que constituem o sarcômero, que é o núcleo básico do aparato contrátil da fibra muscular esquelética e cardíaca¹. Essas moléculas de troponina se ligam ao filamento fino (actina) de fibras musculares estriadas, atuam com o cálcio intracelular para controlar a interação do filamento fino com o filamento grosso (miosina), regulando assim a contração muscular.

A troponina consiste de três sub-unidades:

- T, que liga o complexo de troponina e tropomiosina (outra proteína regulatória do músculo cardíaco).
- I, que previne a contração muscular na ausência de cálcio.
- C, que liga o cálcio.

A troponina I cardíaca (cTnI) e as duas isoformas de músculo esquelético da troponina I possuem uma considerável homologia de sequência de aminoácidos, mas cTnI contém uma sequência adicional de terminal N e é altamente específica para o miocárdio.

Dados e estudos clínicos mostraram que a cTnI é um marcador precoce de lesão do miocárdio, porém, pesquisas recentes apontam que ela também sofre alteração em

casos de disfunção do músculo cardíaco, em especial na insuficiência cardíaca^{2,3,4,5,6,7}.

A insuficiência cardíaca IC é uma síndrome clínica complexa, classicamente definida como incapacidade do coração em bombear suprimento adequado de sangue em relação ao retorno venoso e as necessidades metabólicas tissulares, ocasionando redução do débito cardíaco e elevação das pressões pulmonares e da venosa sistêmica⁸. Embora a insuficiência cardíaca possa ser a via final comum de quase todas as cardiopatias, há dois mecanismos fisiopatológicos básicos pelos quais o coração torna-se insuficiente: comprometimento miocárdico primário e sobrecarga excessiva. Em relação ao primeiro caso, a perda de células miocárdicas resulta principalmente de doença aterosclerótica coronariana ou cardiopatia isquêmica, cardiomiopatia e miocardites. As sobrecargas cardíacas podem ser divididas em sobrecarga de pressão – hipertensão arterial, estenose e coarctação da aorta, estenose pulmonar e hipertensão pulmonar – e sobrecarga de volume – regurgitação valvar, *shunts* ou fístulas arteriovenosas.

A insuficiência cardíaca pode ser classificada em termos clínicos, anatômicos, temporais, em alto e baixo débito cardíaco ou conforme a etapa do ciclo cardíaco predominantemente atingida (sistólica ou diastólica)^{8,9}.

Recebido em 12/5/2003
Aprovado em 27/10/2003

*Lab. de Pesquisa em Biofísica, Depto. de Ciências Fisiológicas, Fac. de Biociências, PUC- RS

Uma forma de classificação que permite quantificar a limitação do paciente com insuficiência cardíaca, é baseada no sistema da *New York Heart Association* (NYHA) e definida como classe I, os pacientes sem limitação à atividade física; classe II, os pacientes de limitação leve a atividades de grandes esforços; classe III, os pacientes com limitação ou sintomas aos moderados esforços; e classe IV, quando há sintomatologia cardíaca ou limitação, mesmo em repouso⁹. Pacientes com IC classe I, geralmente não estão hospitalizados, pois a limitação funcional e as descompensações funcionais são raras.

Os possíveis mecanismos responsáveis pela insuficiência cardíaca congestiva são a disfunção sistólica e a diastólica. Para definir a função ventricular, usa-se, preferencialmente, métodos não-invasivos e o mais empregado é a ecocardiografia, que permite definir a função global e regional.

Na avaliação da contratilidade (função sistólica), podemos utilizar os chamados índices da fase de ejeção, sendo mais freqüente a estimativa da fração de ejeção, que é o percentual ejetado do volume final da diástole (considerado normal acima de 55%) e da fração de encurtamento, relativo ao percentual de encurtamento do diâmetro do ventrículo no final da diástole⁹. Dimensões ventriculares esquerdas no fim da diástole maiores do que 5,6cm representam um sinal indireto de disfunção sistólica. A função diastólica é verificada com o uso do efeito Doppler, que permite determinar o tempo de desaceleração da onda E (que representa o enchimento ventricular inicial rápido) e a relação entre ela e a onda A (que representa o enchimento proporcionado pela contração atrial), a partir da válvula mitral. A ecocardiografia permite, ainda, detectar hipertrofia ventricular e alterações estruturais que possam fornecer indícios acerca da etiologia da patologia miocárdica, como no caso das valvulopatias.

O presente estudo tem por objetivo verificar a ocorrência de elevação nos índices de cTnI na disfunção miocárdica, mais precisamente na IC, em pacientes sem história recente de isquemia cardíaca.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizados estudos em pacientes com IC classes II e III, segundo a *New York Heart Association* – NYHA. O diagnóstico de IC foi feito pela clínica documentada dos pacientes, associado a exames complementares como eletrocardiograma ou ecocardiograma. Todos os pacientes estavam internados em um mesmo hospital, sendo excluídos pacientes com história recente (tempo mínimo de 6 meses) de cardiopatia isquêmica, procedimentos hemodinâmicos, cirurgias cardiovasculares ou reanimação cardiorespiratória.

Foram incluídos no grupo de análise 30 pacientes, 17 do sexo masculino e 13 do sexo feminino. A idade média dos pacientes foi de 54 anos (± 12 anos). Desses pacientes, 11 deles apresentavam diagnóstico de IC classe II e 9 de IC classe III sendo que os outros 10 pacientes faziam parte do grupo controle. A população controle foi composta por pacientes sem história de doença cardiovascular ou que atendessem a qualquer critério de exclusão.

Foi realizada a quantificação dos resultados e os mesmos foram segmentados em grupos conforme os níveis de troponina I: inferiores ou iguais a 0,5ng/mL; entre 0,5ng/mL e 1,0ng/mL e superiores ou iguais a 1,0ng/mL.

Amostras de sangue venoso (5mL) foram coletadas da veia braquial direita dos pacientes em frasco seco correspondente ao indicado para coleta de soro. Em seguida, após completa retração do coágulo em temperatura ambiente, as amostras foram centrifugadas e os soros analisados para cTnI no sistema Turbo Immulite (DPC), que utiliza uma pérola revestida com anticorpo anti-troponina I monoclonal de rato e reagente à base de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com anticorpo anti-troponina I policlonal de cabra tamponizado. As análises foram feitas no próprio laboratório hospitalar, de acordo com as especificações e procedimentos padrões para esse sistema, que opera através dos princípios da quimioluminescência. Os valores de referência para amostras de indivíduos sadios é inferior a 1,0ng/mL.

RESULTADOS

A Fig. 1 apresenta a distribuição dos pacientes, conforme a classe de IC ou controle, de acordo com o grupo de valores da cTnI.

A análise bioquímica da cTnI evidenciou que no grupo de pacientes controle (n=10), nenhum apresenta resultado igual ou superior a 1,0ng/mL, sendo que, a maioria das amostras (80%), se enquadram no grupo com cTnI de 0,5ng/mL (Tab. I).

Entre os pacientes analisados com diagnóstico de insuficiência cardíaca, verifica-se que 10% (2/20) apre-

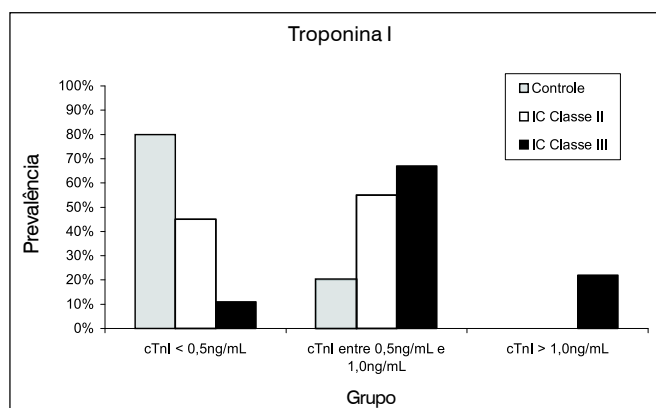


FIG.1 - Gráfico demonstrando a prevalência dos pacientes nas suas respectivas classificações de Insuficiência Cardíaca e conforme os níveis de cTnI.

TABELA I
Grupos de estudos, mostrando o número de pacientes incluídos e a percentagem em relação aos distintos grupos de níveis de cTnI

Grupo	n	cTnI $\leq$ 0,5ng/mL	cTnI entre 0,5ng/mL e 1,0ng/mL	cTnI $\geq$ 1,0ng/mL
Controle	10	80%	20%	0%
IC Classe II	11	45%	55%	0%
IC Classe III	9	11%	67%	22%

sentam cTnI igual ou superior a 1,0ng/mL. Níveis superiores ao ponto de corte de 1,0ng/mL somente foi observado no grupo de pacientes com IC classe III, na proporção de 22%^(2/9).

DISCUSSÃO

Este estudo analisa a hipótese de que pacientes com IC possam ter níveis elevados de cTnI, mesmo na ausência de lesão miocárdica aguda. Na IC ocorre uma sutil e progressiva necrose subendocárdica, ou seja, um grau mais baixo de prejuízos da miocardia, principalmente, do ventrículo esquerdo, se comparado ao infarto agudo do miocárdio (IAM). Outro fato relevante, é que no IAM a cTnI tem um modelo típico de aumento e queda, com um pico diversas vezes acima dos valores de referência. Já nas IC, há uma crônica, estável e baixo nível de liberação de proteínas^{10,11,12,13,14}.

Vários estudos estão ocorrendo na tentativa de entender como ocorre essa liberação de cTnI na IC. Logeart e colaboradores¹⁵, por exemplo, acreditam que a perda progressiva de miócito cardíaco está associada com a disfunção do ventrículo esquerdo. Os mecanismos da perda miócito incluiriam necrose e apoptose que podem ser devidos a uma variedade de fatores, tais, como mudança intersticial reduzindo a densidade capilar, uma reserva reduzida e isquemia subendocardial, ativação excessiva de fatores neurohormonal vasoconstritor e ativação citocina. Para Güler e colaboradores¹⁶, a liberação de proteínas cardíacas pode ser causada por um aumento agudo ou crônico de pressão no ventrículo esquerdo que dilataria os miócitos e resultaria em danos para proteínas contráteis, mecanismo chave responsável pela liberação dos limites estruturais de cTnI. Em ambos os estudos, a porcentagem de pacientes com cTnI aumentada ficou em torno de 20%, o que nos mostra que ainda existe algum fator que impeça que todos os pacientes com IC apresentem valores alterados de cTnI. O presente estudo obteve valores alterados de cTnI em 10% dos pacientes analisados com IC, sugerindo que haja um provável aumento desta porcentagem se os pacientes analisados apresentassem a função cardíaca mais deteriorada, ou seja, IC classe IV segundo NYHA, como nos estudos anteriores já mencionados em que pacientes dessa classe fizeram parte. Os pacientes que apresentam diagnóstico de IC classe IV representam uma minoria dos casos, visto que a mortalidade neste grupo de pacientes é extremamente alta (aproximadamente 90% em 2 anos) e os casos estão, na grande maioria, relacionados com cardiopatia isquêmica severa e hospitalizados em unidades de tratamento intensivo ou em enfermarias para transplante cardíaco.

Quando observamos a quantificação da cTnI nos grupos analisados, observamos que a grande maioria dos pacientes controle (80%) apresentam valores inferiores a 0,5ng/mL, e em 20% dos casos, os valores encontram-se no intervalo de 0,5 a 1,0ng/mL. A análise dos pacientes com IC classe II e III permite uma avaliação sugestiva de serem estes os pacientes com lesão miocárdica dita não-coronariana. Sendo que a maioria destes pacientes apresentam valores entre 0,5 e 1,0ng/

mL, significando lesão miocárdica instalada, detectável por este método bioquímico. Hamm e colaboradores avaliaram uma possível elevação da troponina I em pacientes com insuficiência renal crônica (terminal) secundária, provavelmente, a não excreção renal desta enzima, considerando relevante estudos futuros que correlacionem a cTnI com a função renal¹⁷.

De acordo com os resultados obtidos nesse estudo, a cTnI sugere ser um importante marcador bioquímico para avaliação de insuficiência cardíaca, onde pacientes que possuam a função cardíaca em maior grau de deterioração, apresentam os maiores índices de cTnI sérica, uma vez que ela está diretamente relacionada ao grau ou extensão da lesão miocárdica. Além da avaliação clínica e imageológica, o emprego da cTnI junto ao diagnóstico e no acompanhamento destes pacientes poderá representar um potencial marcador de evolução da insuficiência cardíaca.

REFERÊNCIAS

1. Motta V. T. Bioquímica clínica: princípios e interpretações. 3ª ed. Porto Alegre: Ed. Médica Missau; 2000.
2. Giuliani, Isabelle, *et al.* Determination of cardiac troponin I forms in the blood of patients with unstable angina pectoris. *Clinical Biochemistry* 2002; 32:111-117.
3. Mann D. I. Mechanisms and models in heart failure: a combinatorial approach. *Circulation* 1999; 100:999-1008.
4. Benamer H., Steg G., Benessiano J., *et al.* Elevated cardiac troponin I predicts a high risk angiographic anatomy of the culprit lesion in unstable angina. *Am Heart J* 1999; 137:815-20.
5. Giuliani I., Bertichant J. P., Granier C., *et al.* Determination of cardiac troponin I forms in the blood of patients with acute myocardial infarction and patients receiving crystalloid or cold blood cardioplegia. *Clin Chem* 1999;45:213-22.
6. Fearon W. F., Lee F. H., Frolicher V. F. Does elevated cardiac troponin I in patients with unstable angina predict ischemia on stress testing? *Am J Cardiol* 1999;84:1440-2.
7. Janorkar S., Koning R., Elchaninoff H., *et al.* Relation between serum cardiac troponin I values and severity of clinical, electrocardiographic and quantitative angiographic features in unstable angina. *Undian Heart J* 1999;51:31-4.
8. Castro I. Cardiologia: princípios e prática. P. Alegre: Ed. Artmed, 1999.
9. Braunwald E. Tratado Médico Cardiovascular. 4ª ed. São Paulo: Ed. Roca, 1996.
10. Wu A., Apple F., Gibler W., *et al.* National Academy of Clin. Biochemistry Standards of Laboratory Practice: Recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. *Clin Chem* 1999;45:1104-21.
11. Tymchak W. J., Armstrong P. W.: Spectrum of ischemic heart disease and the role of biochemical markers. *Clin Lab Med* 1997;17:701-725.
12. Ricchiuti V., Sharkey S. W., Murakami M. M., *et al.* Cardiac troponin I and T alteration in dog hearts with myocardial infarction. *Am J Clin Pathol* 1998;110:241-247.
13. Chen Y. N., Wei J. R., Zeng L. J., *et al.* Monitoring of cardiac troponin I in patients with acute heart failure. *Ann Clin Biochem* 1999; 36:433-437.
14. Collinson PO: Troponin T or Troponin I or CK-MB (or none?). *Eur Heart J* 1998; 19 (suppl N):N16-N24.
15. Logeart, Damien, *et al.* Evidence of cardiac myolysis in severe nonischemic heart failure and the potential role of increased wall strain. França. 2001.
16. Güler, Niyazi *et al.* Cardiac Troponin I. Levels in Patients with left heart failure anr cor pulmonale. *Angiology. EUA. Volume 52, p. 317-322, Maio 2001.*
17. Hamm C.W., Giannitsis E., Katus H. A. Cardiac troponin elevations in patients without acute coronary syndrome. *Circulation* 106:2871-2, 2002.

Endereço para correspondência

Dr. Jarbas Rodrigues de Oliveira

Laboratório de Pesquisa em Biofísica, Departamento de Ciências

Fisiológicas, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Av Ipiranga 6681, prédio 12C salas 263 - CEP 90619-900 - Porto Alegre - RS

E-mail: jarbas@puccrs.br

Monitorização terapêutica de sirolimus

Sirolimus therapeutic monitoring

Marisa Gutjahr Kayser^{1*}

RESUMO – Sirolimus tem sido utilizado em pacientes transplantados prolongando a sobrevida do enxerto. Age bloqueando os sinais de receptores de interleucina-2 e de outras citocinas, suprimindo a proliferação de células T e, conseqüentemente, a resposta imune. Seu mecanismo de ação mostra-se diferente do mecanismo da ciclosporina e do tacrolimus. Em vista disso, tem sido empregado associado à ciclosporina em transplantes renais em humanos devido ao efeito sinérgico entre esses dois fármacos e à ausência de nefrotoxicidade do sirolimus. Considerando a sua estreita janela terapêutica, é recomendado realizar sua monitorização terapêutica para maximizar a eficácia e minimizar a toxicidade. Os métodos estabelecidos para determinação dos níveis sanguíneos de sirolimus são cromatografia líquida de alta eficiência associada à espectrometria de massa e cromatografia líquida de alta eficiência com detector ultravioleta. Imunoensaios estão sendo desenvolvidos e avaliados e poderão surgir como uma opção para a implantação da monitorização terapêutica de sirolimus na rotina dos laboratórios clínicos. Quando executada corretamente, a monitorização terapêutica do sirolimus mostra-se útil em maximizar a eficácia e minimizar a toxicidade do fármaco, levando mais segurança e tranquilidade para os médicos na condução da terapia, uma melhor qualidade de vida para os pacientes e diminuição de gastos em serviços de saúde..

PALAVRAS-CHAVE – Sirolimus, monitorização terapêutica, imunossuppressores.

SUMMARY – Sirolimus has been used in the field of organ transplantation, increasing graft survival. It blocks the signals of IL-2 receptors and of other cytokines suppressing T-cell proliferation, and consequently the immune response. Its mechanism of action is distinct from that of cyclosporin and tacrolimus. Sirolimus has been used combined with cyclosporin in human renal transplantation due to the synergistic immunosuppressive effect between these two pharmacological products, and the absence of sirolimus nephrotoxicity. Considering the narrow therapeutic interval of sirolimus, the therapeutic monitoring is recommended to maximize efficacy and minimize toxicity. Analytical methods to measure sirolimus blood levels are high-performance liquid chromatography combined with mass spectrometry and high-performance liquid chromatography by UV-detection. Immunoassays are being developed and evaluated, and should appear as alternatives for implantation of therapeutic sirolimus monitoring in clinical laboratory. When performed correctly, therapeutic sirolimus monitoring demonstrates to be efficient in maximizing efficiency and minimizing drug toxicity, offering increased safety and tranquility to physicians, increasing life quality for patients and reducing expenses with health attendance.

KEYWORDS – Sirolimus, therapeutic drug monitoring, immunosuppressors.

INTRODUÇÃO

Por cerca de 30 anos, a imunossupressão de transplantes de órgãos foi limitada à disponibilidade de três classes de fármacos: corticosteróides, azatioprina e ciclosporina. No entanto, nos últimos 10 anos, novos agentes imunossuppressores como tacrolimus e mico-fenolato mofetil foram desenvolvidos e estão disponíveis para o uso em pacientes transplantados. Sirolimus, também chamado rapamicina, parece surgir como um fármaco promissor que poderá, no futuro, substituir os inibidores da calcineurina, como a ciclosporina¹².

Sirolimus foi descrito originalmente em 1975 como um antibiótico da família dos macrolídeos, produzido pelo actinomiceto *Streptomyces hygroscopicus*¹⁷. Embora inicialmente investigado por sua atividade antibiótica contra *Candida albicans*, em uma série de estudos realizados "in vitro" e "in vivo", sirolimus demonstrou atividade imunossupressora, prolongando a sobrevida do enxerto, ao inibir a sua rejeição^{1,7}. Vários ensaios "in vitro" demonstraram sirolimus ser até 100 vezes mais potente que a ciclosporina A^{6,13,24}.

Este trabalho tem por objetivo apresentar, através de uma revisão bibliográfica, os aspectos importantes para a monitorização terapêutica do sirolimus, abordando o seu mecanismo de ação e a sua farmacocinética.

Referencial teórico

A resposta imunológica depende da interação de várias células e fatores de crescimento e de ativação solúveis (citocinas). Uma das principais células desse processo é a célula T CD4⁵.

A resposta imunológica da célula T CD4 compreende duas fases: a primeira, envolve a ligação do receptor da célula T com o antígeno unido a moléculas de classe II do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC), disposto na superfície de células apresentadoras de antígeno (macrófagos, células B ativadas, células dendríticas). Essa ligação faz com que ocorra a transcrição de genes de linfocinas e a proliferação de células T^{5,12}. A segunda fase envolve a resposta das células T ativadas com produção de linfocinas (interleucinas), como a IL-2 e IL-4 que vão atuar sobre células T CD8 (citotóxicas) e linfócitos B (relacionado à resposta de anticorpos), dois outros componentes da resposta imunológica. Essas linfocinas também levam à proliferação de mais células T CD4 com subsequente expansão clonal e ativação das mesmas^{5,12}.

O mecanismo de ação do sirolimus mostra-se diferente do mecanismo do tacrolimus e da ciclosporina. Os dois últimos inibem a transdução do sinal ativado

Recebido em 26/6/2003

Aprovado em 27/10/2003

^{1*} Laboratório Central de Análises Clínicas, Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, RS, Brasil.

pelo receptor da célula T. A ativação do receptor da célula T leva, entre outros eventos, à ativação de uma enzima conhecida como calcineurina. Esta, por sua vez, desfosforila um componente citoplasmático (fator nuclear das células T ativadas - NFAT) que então passa para o núcleo e regula a transcrição de muitos genes, com subsequente produção de linfocinas⁵.

A ciclosporina, em associação à sua proteína de ligação, ciclofilina, e o tacrolimus, associado à sua proteína de ligação, FKBP, unem-se de forma estável à calcineurina na superfície endofacial das células T, inibindo a atividade catalítica da calcineurina. Consequentemente, inibem o NFAT que regula a síntese de diversos tipos de citocinas, suprimindo assim, a produção de IL-2, IL-4 e a estimulação subsequente de outras células T, entre outros eventos, resultando na supressão da resposta imune^{5,8}.

Ao contrário dos imunossuppressores mencionados acima, o sirolimus tem pouco ou nenhum efeito sobre a produção de interleucina-2 (IL-2) e sobre a expressão do receptor de IL-2¹⁹. No entanto, bloqueia os sinais dos receptores de IL-2 e dos receptores de outras citocinas e fatores de crescimento, que são vias de transdução de sinais necessários para a proliferação e diferenciação de células T e B. Assim, suprime a proliferação de células T, mediada por interleucinas e o surgimento dos outros dois componentes da resposta imunológica: a célula T citolítica e a célula B produtora de anticorpos^{5,8,12}.

É importante notar que, embora o sirolimus e o seu análogo estrutural tacrolimus, se liguem ao mesmo receptor intracelular, Imunofilina FKBP-12, o sirolimus atua mais tardiamente no ciclo de progressão de células T, por bloquear a via de transdução do sinal mediada por citocinas¹⁸.

Como seu mecanismo de ação é diferente daquele da ciclosporina e do tacrolimus, poderia ser usado como complemento aos inibidores da calcineurina. Vários estudos têm demonstrado que o sirolimus potencializa a eficácia imunossupressora de regimes terapêuticos que utilizam ciclosporina/prednisona^{6,8,19}, pois o sirolimus atua sinergicamente com a ciclosporina na inibição da proliferação de células B e T^{8,18}.

Farmacocinética

A farmacocinética do sirolimus em humanos foi estudada por vários investigadores. Esses estudos mostraram que o pico da concentração de sirolimus ocorre dentro de uma hora após a administração de doses múltiplas via oral em pacientes transplantados renais, podendo variar entre 0,33 e 5 horas⁸, da mesma forma que em pacientes normais, após dose única via oral (variando de 20 minutos a 1 hora)³, indicando uma rápida absorção gastrointestinal^{6,10}.

O tempo de meia-vida é relativamente longo, cerca de 62 horas (ocorrendo em um intervalo de 35 a 95 horas)^{6,8,10}, sugerindo que a monitorização terapêutica freqüente não é necessária. Determinações relacionando dose e concentrações indicam proporcionalidade entre a dose e a concentração no vale. A monitorização da concentração residual pode ser realizada 12 ou 24 horas após administração do fármaco, dependendo do regime de doses⁶, pois há excelente correlação entre a concentração mínima (C_{min}) durante o intervalo de doses e a biodisponibilidade⁸. A distribuição do sirolimus no sangue total humano não exibe dependência de temperatura e concentração, ao contrário de ciclosporina e tacrolimus. Sirolimus liga-se principalmente aos eritrócitos (~95%), proporção de ligação maior que à relatada para ciclosporina e tacrolimus^{23,24}.

Os conhecimentos atuais com respeito à biotransformação do sirolimus são limitados. Sirolimus é meta-

bolizado pelas enzimas do citocromo P450 3A4 16 dando origem a, no mínimo, 7 metabólitos, incluindo hidroxi, desmetil e hidroxidesmetil sirolimus, que são identificáveis no sangue total. Pouco se sabe sobre a atividade imunossupressora dos metabólitos⁶. A depuração da dose oral apresenta grande variabilidade individual, em parte, devido à variação na velocidade de biotransformação pelas enzimas do citocromo P450 3A4 no fígado e no intestino^{3,6}.

A análise de sangue total de receptores de transplantados renais demonstraram a presença de metabólitos em concentrações combinadas, que se assemelhavam ou excediam àquela do sirolimus no vale. Isto demonstra que os metabólitos do sirolimus estão presentes no sangue total em concentrações que poderiam interferir com imunoenaios inespecíficos para o fármaco de origem e também poderiam ser um fator significativo na imunossupressão e toxicidade se for constatado que tenham atividade farmacológica ou toxicológica. Estudos adicionais sobre os metabólitos do sirolimus, no tocante à estrutura e atividade imunossupressora e toxicológica, são necessários para estabelecer completamente a significância clínica destes compostos⁶. A eliminação de sirolimus ocorre, principalmente, pela via fecal (91%), sendo eliminado em pequena quantidade na urina (2,2%)¹⁰.

Indicações para a monitorização terapêutica do sirolimus

O sirolimus, como outros fármacos imunossuppressores, possui estreita janela terapêutica. Em vista disso, é aconselhável acompanhar se a dose utilizada está adequada para que sua concentração no sangue situe-se dentro do intervalo terapêutico. Estudos preliminares com sirolimus em animais e seres humanos, sugerem uma relação entre concentração do fármaco e eficácia imunossupressora e toxicidade²³. Sendo assim, a monitorização terapêutica, que é o processo de quantificar a concentração de fármacos e usar essas medidas para otimizar o regime de doses, a formulação, a via de administração e a freqüência de utilização para cada paciente, pode ser usada para maximizar a eficácia e minimizar a toxicidade de sirolimus²¹.

Pacientes com concentrações muito altas de sirolimus estão mais sujeitos a efeitos adversos, principalmente complicações envolvendo infecções, pois ficam excessivamente imunossuprimidos, enquanto aqueles com concentrações muito baixas de sirolimus podem rejeitar o enxerto²⁴. Além disso, o uso de sirolimus pode levar à hipertensão arterial, hiperglicemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e insuficiência cardíaca congestiva¹⁰, entre outros efeitos adversos, e o tratamento desses efeitos aumenta os custos dos serviços de saúde. Portanto, o acompanhamento dos níveis sanguíneos de sirolimus é fundamental, visto que esses efeitos adversos estão relacionados a altas concentrações no sangue.

A monitorização terapêutica de sirolimus também deve ser realizada em pacientes fazendo uso de outros fármacos, devido às interações medicamentosas, e em pacientes nos extremos das idades e/ou com outras patologias.

Interações

É importante realizar a monitorização terapêutica de sirolimus em pacientes transplantados, uma vez que esses pacientes, geralmente, fazem uso de outros fármacos que podem interferir na sua metabolização; além disso, esta pode variar muito de pessoa para pessoa.

O fato do sirolimus ser extensamente metabolizado pela CYP3A4 tem grande importância clínica, uma vez que há muitos indutores e inibidores dessa isoenzi-

ma¹⁰. Os inibidores da CYP3A4 podem diminuir o metabolismo de sirolimus e aumentar seus níveis, enquanto que os indutores da CYP3A4 podem aumentar o metabolismo de sirolimus e diminuir seus níveis sanguíneos¹⁰. Fármacos como cetoconazol, eritromicina, metoclopramida, cimetidina, verapamil e nicardipina, podem aumentar as concentrações de sirolimus no sangue. Por outro lado, fármacos como rifampicina, carbamazepina, fenobarbital, fenitoína e rifabutina, podem diminuir os níveis de sirolimus no sangue. Portanto, pacientes fazendo uso concomitante desses fármacos devem ter os níveis sanguíneos de sirolimus monitorados, e a redução ou aumento de dose deste imunossupressor deve ser considerada¹⁰.

As interações de fármacos também podem alterar sua absorção e excreção, e a monitorização terapêutica pode ser de grande utilidade para detectar a ocorrência destes eventos²¹. O sirolimus tem sido usado em vários estudos em conjunto com ciclosporina ou tacrolimus em transplantes renais, hepáticos, cardíacos e pancreáticos^{11,12,20}. O uso deste fármaco é de especial interesse em transplantes renais, pois, foi verificado que o sirolimus não altera o fluxo sanguíneo glomerular nem a taxa de filtração glomerular, comprovando que não leva à nefrotoxicidade^{3,12}.

A associação de ciclosporina e sirolimus tem sido empregada em transplantes renais em humanos, devido ao efeito imunossupressor sinérgico entre esses dois fármacos e à ausência de nefrotoxicidade do sirolimus. Este sinergismo permite o uso de doses mais baixas desses fármacos, resultando em diminuição da toxicidade, em vista de que essa combinação potencia seus efeitos terapêuticos, mas não seus efeitos tóxicos⁴. Estudos demonstraram que essa combinação reduziu significativamente o número de episódios de rejeição aguda. Entretanto, verificou-se que o sirolimus aumentou a toxicidade renal da ciclosporina. Assim, essa combinação deve ser evitada por longos períodos, podendo ser usada na indução da terapia por 2 a 3 meses. Na manutenção da imunossupressão o uso da ciclosporina é descontinuado, enquanto as doses de sirolimus são aumentadas¹².

Estudos investigando interação entre a administração oral de ciclosporina e sirolimus mostraram que o momento da administração de ciclosporina afeta a concentração de sirolimus, ao passo que a administração de sirolimus não afeta a concentração de ciclosporina. Os níveis de sirolimus na concentração no vale foram significativamente maiores quando administrados concomitantemente, em oposição aos níveis quando os dois fármacos foram administrados com quatro horas de intervalo^{6,9}. Isso deve-se ao fato da ciclosporina afetar o metabolismo de sirolimus pelo CYP3A4 no trato gastrointestinal. Desta forma, é recomendado que o sirolimus seja administrado quatro horas após a ciclosporina¹⁰. Assim, conclui-se que deve ser observado o momento de administração de cada fármaco para interpretar os resultados das dosagens de sirolimus em pacientes que fazem uso simultâneo desses dois imunossupressores.

Genética

Há grande polimorfismo genético do gene da família de isoenzimas do citocromo P450. Essa variação genética na constituição dos indivíduos pode causar a diferença entre a metabolização lenta ou rápida dos fármacos²¹. Deste modo, o ajuste da dose depende do comportamento das isoenzimas, que metabolizam o sirolimus e pode ser realizado com base nos resultados obtidos na monitorização terapêutica.

Patologias

Devido ao fato de o metabolismo de sirolimus ser hepático, transplantados hepáticos ou pacientes com insuficiência hepática leve, moderada ou aguda, devem ter os níveis de sirolimus monitorizados para ajuste das doses administradas.

Idade

A depuração de fármacos é alterada pela idade. Em geral, a depuração está diminuída em idosos e neonatos²¹. Portanto, a monitorização terapêutica, deve ser considerada em pacientes com mais de 65 anos de idade¹⁰.

Estudo realizado comparando pacientes pediátricos com adultos sadios revelou que a depuração de sirolimus foi significativamente maior nos pacientes pediátricos do que nos adultos normais. Por isso, deve-se realizar a monitorização terapêutica de sirolimus em pacientes pediátricos^{10,21}.

Dieta

Fatores relacionados à dieta podem alterar a concentração de sirolimus. Ingestão de sirolimus com refeições altamente gordurosas podem diminuir a concentração máxima, mas aumentar a biodisponibilidade em 35%. Portanto, a administração de sirolimus, com ou sem ingestão de alimentos, deve ser sempre respeitada para uma manutenção consistente dos níveis sanguíneos¹⁰. Essa observação deve ser considerada na interpretação dos resultados das dosagens de sirolimus, visto que é fator interferente na cinética do fármaco.

Parâmetros para a realização da monitorização terapêutica

A amostra de escolha para a dosagem de sirolimus é o sangue total colhido com EDTA, visto que aproximadamente 95% do sirolimus encontra-se ligado aos eritrócitos^{4,15,22}. O intervalo clínico esperado situa-se entre 5 e 30ng/mL¹⁹ com uma média de 9ng/mL para o grupo de pacientes tratados com doses de 2mg/dia, e de 17ng/mL para aqueles tratados com doses de 5mg/dia¹⁰.

A colheita da amostra deve ser realizada pouco antes da administração da próxima dose (concentração no vale). Como as concentrações do fármaco podem variar com a hora do dia, a colheita deve ser feita sempre à mesma hora, de modo a assegurar a consistência intrapaciente²³.

Baseado na longa meia-vida do sirolimus e na correlação existente entre a dose e a concentração mínima durante o intervalo de doses, é recomendado que a frequência máxima de monitorização seja de uma vez a cada 24 horas durante o período imediato pós-transplante. Dados obtidos de pacientes transplantados recebendo doses orais de sirolimus sugerem que a monitorização dos níveis sanguíneos pode ocorrer dentro de 5 a 7 dias após o início da terapia ou troca de dose²³. No entanto, o tempo para atingir o estado de equilíbrio após o início da terapia ou após ajuste de doses pode variar até 18 dias⁴.

Como baixas doses de sirolimus são requeridas para a imunossupressão, os métodos para sua determinação devem ter sensibilidade suficiente para medir concentrações relativamente baixas (ng/mL)^{23,24} e também devem permitir a determinação da fração farmacologicamente ativa.

Até o presente momento, os dois métodos estabelecidos para dosagem de sirolimus são a cromatografia líquida de alta eficiência associada à espectrometria de massa (HPLC/MS) e a cromatografia líquida de alta

eficiência com detector ultravioleta (HPLC/UV). A sensibilidade desses métodos é suficiente para detectar as concentrações de sirolimus encontradas no vale, portanto sendo adequados à monitorização terapêutica^{19,23}. Entretanto, esses métodos analíticos são trabalhosos e consomem tempo².

Imunoensaios para a quantificação de sirolimus estão em fase de avaliação^{2,14}. Está sendo desenvolvido um imunoensaio enzimático com micropartículas (MEIA) semi-automatizado, para determinar a concentração de sirolimus no sangue total. Estudos comparativos realizados por Blonski e colaboradores² demonstrou que esse imunoensaio correlaciona-se bem ($r=0,988$) com os métodos analíticos correntemente utilizados (HPLC), podendo vir a ser uma alternativa precisa e segura para o acompanhamento dos níveis de sirolimus em pacientes transplantados. No entanto, Salm e colaboradores¹⁴ verificaram que, em alguns pacientes, pode haver reação-cruzada dos anticorpos do ensaio com os metabólitos circulantes de sirolimus. O grau e a importância clínica dessa observação está ainda sendo determinada.

A correta obtenção e a conservação das amostras sanguíneas é importante para garantir a integridade das mesmas e a fidedignidade dos resultados obtidos. Estudo realizado por Salm e colaboradores¹⁵ indicou que o sirolimus é estável nas amostras sanguíneas com EDTA estocadas sob refrigeração ou à temperatura ambiente por até 8 dias, e que até três ciclos de congelamento (-80°C) e descongelamento não resultam em alterações nos resultados das concentrações de sirolimus.

CONCLUSÕES

O sirolimus surge como um novo e potente fármaco imunossupressor que proporciona uma alternativa para minimizar os efeitos tóxicos da ciclosporina e pode se tornar um par eficiente e seguro com tacrolimus nos diversos tipos de transplantes em seres humanos. A monitorização terapêutica nesses pacientes é importante, uma vez que pode haver diferenças individuais na sua farmacocinética e, geralmente, esses pacientes fazem uso de outros medicamentos que interferem na sua metabolização e, conseqüentemente, alteram seus níveis sanguíneos. É recomendado também que seja feita a monitorização terapêutica em pacientes com mais de 65 anos de idade e em pacientes pediátricos, pois esses indivíduos apresentam, respectivamente, diminuição ou aumento da depuração de sirolimus, alterando seus níveis sanguíneos.

Visto que a janela terapêutica do sirolimus é estreita, fatores que alterem sua concentração podem levar a episódios de rejeição ou a maior incidência de efeitos adversos, entre eles, aumento dos riscos de infecções, hipertensão arterial, hiperglicemia e hipercolesterolemia. Somente o desenvolvimento de imunoensaios específicos pode tornar rotineira a quantificação dos níveis sanguíneos de sirolimus, pois a maioria dos laboratórios clínicos não possui condições técnicas e equipamentos para dosagens de sirolimus por HPLC. Entretanto, analisadores para imunoensaios são mais freqüentemente utilizados nestes estabelecimentos.

É recomendável que os resultados da monitorização terapêutica sejam analisados juntamente com a clínica dos pacientes, e que informações relacionadas à dose, via de administração, momento da administração, dieta, duração do tratamento e uso concomitante de outros fármacos sejam consideradas. Quando executada corretamente, a monitorização terapêutica mostra-se eficiente em maximizar a eficácia e minimizar a toxicidade do fármaco, principalmente, em populações de pacientes transplantados, levando mais segurança

e tranquilidade para os médicos na condução da terapia, uma melhor qualidade de vida para os pacientes e a diminuição de gastos em serviços de saúde.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Flávia Valladão Thiesen da Faculdade de Farmácia da PUCRS, pela orientação segura durante a realização desse trabalho. À chefia e supervisão do Laboratório Central da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCMPA) e também ao farmacêutico-bioquímico Rafael Noal Moresco pelo incentivo e apoio.

REFERÊNCIAS

1. Beer, A.; Mies, S.; Kalil, J.; Raia, S. Drogas utilizadas em transplantes para controle da rejeição. In: Silva, P. Farmacologia. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p. 485.
2. Blonski, D. R.; Brate, E.; Bergmann, M. Clinical studies on IMx sirolimus, a semi-automated whole blood assay [abstract]. Clin Chem 1998; 44 (Suppl 6): A92.
3. Brattström, C.; Säwe, J.; Jansson, B.; Lönnnebo, A.; Nordin, J.; Zimmerman, J.; et al. Pharmacokinetics and safety of single oral doses of sirolimus (rapamycin) in healthy male volunteers. Ther Drug Monit 2000; 22(5): 537-544.
4. Brattström, C.; Säwe, J.; Tydén, G.; Herlenius, G.; Claesson, K.; Zimmerman, J.; Groth, C. G. Kinetics and dynamics of single oral doses of sirolimus in sixteen renal transplant recipients. Ther Drug Monit 1997; 19(4): 397-406.
5. Diasio, R. B.; Lo Buglio, A. F. Imunomoduladores: imunossuppressores e imunostimulantes. In: Limbird, L. E.; Molinoff, P. B.; Ruddon, R. W. Goodman e Gilman's As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 9ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 1996. p. 953-965.
6. Gallant-Haidner, H. L.; Trepanier, D. J.; Freitag, D. G.; Yatscoff, R. W. Pharmacokinetics and metabolism of sirolimus. Ther Drug Monit 2000; 22(1): 31-35.
7. Kahan, B. D.; Chang, J. Y.; Seghal, S. N. Preclinical evaluation of a new potent immunosuppressive agent, rapamycin. Transplantation 1991; 52: 185-191.
8. Kahan, B. D.; Murgia, M. G.; Slaton, J.; Napoli, K. Potential applications of the therapeutic drug monitoring of sirolimus immunosuppression in clinical renal transplantation. Ther Drug Monit 1995; 17(6): 672-675.
9. Kaplan, B.; Meier-Kriesche, H.; Napoli, K. L.; Kahan, B. D. The effects of relative timing of sirolimus and cyclosporine microemulsion formulation coadministration on the pharmacokinetics of each agent. Clin Pharm. Ther 1998; 63: 48-53.
10. Lacy, C. F.; Armstrong, L. L.; Goldman, M. P.; Lance, L. L. Drug Information Handbook. 8ª ed. Cleveland: Lexi-Comp; 2000.
11. McAlister, V. C.; Gao, Z.; Peltekian, K.; Domingues, J. Sirolimus-tacrolimus combination immunosuppression. Lancet 2000; 355: 376-377.
12. Morelon, E.; Mamzer-Bruneel, M. F.; Peraldi, M. N.; Kreis, H. Sirolimus: a new promising immunosuppressive drug. Towards a rationale for its use in renal transplantation. Nephrol Dial Transplant 2001; 16: 18-20.
13. Morris, R. E. Rapamycins: antifungal, antitumor, antiproliferative and immunosuppressive macrolides. Transplant Rev 1992; 6: 39.
14. Salm, P.; Taylor, P. J.; Pillans, P. I. Analytical performance of microparticle enzyme immunoassay and HPLC-tandem mass spectrometry in the determination of sirolimus in whole blood. Clin Chem 1999; 45(12): 2278-2280.
15. Salm, P.; Tresillian, M. J.; Taylor, P. J.; Pillans, P. I. Stability of sirolimus (rapamycin) in whole blood. Ther Drug Monit 2000; 22(4): 423-426.
16. Sattler, M.; Guengerich, F. P.; Yun, C. H.; Christians, U.; Sewing, K. F. Cytochrome P-450 enzymes are responsible for biotransformation of FK506 and rapamycin in man and rat. Drug Met Dispos 1992; 20: 753-761.
17. Seghal, S. N.; Baker, H.; Vezina, C. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic: fermentation, isolation and characterization. J Antibiot 1975; 28: 727-732.
18. Seghal, S. N. Rapamune (sirolimus, rapamycin): An overview and mechanism of action. Ther Drug Monit 1995; 17(6): 660-665.
19. Svensson, J. O.; Brattström, C.; Säwe, J. Determination of rapamycin in whole blood by HPLC. Ther Drug Monit 1997; 19(1): 112-116.
20. Taylor, P. J.; Salm, P.; Lynch, S. V.; Pillans, P. I. Simultaneous quantification of tacrolimus and sirolimus, in human blood, by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Ther Drug Monit 2000; 22(5): 608-612.
21. Walson, P. D. Therapeutic drug monitoring in special populations. Clin Chem 1998; 44: 415-419.
22. Yatscoff, R.; LeGatt, D.; Keenan, R.; Chackowski, P. Blood distribution of rapamycin. Transplantation 1993; 56: 1202.
23. Yatscoff, R. W.; Boeckx, R.; Holt, D. W.; Kahan, B. D.; LeGatt, D. F.; Seghal, S.; et al. Consensus guidelines for therapeutic drug monitoring of rapamycin: report of the consensus panel. Ther Drug Monit 1995; 17(6): 676-680.
24. Yatscoff, R. W.; Wang, P.; Chan, K.; Hicks, D.; Zimmerman, J. Rapamycin: distribution, pharmacokinetics, and therapeutic range investigations. Ther Drug Monit 1995; 17(6): 666-671.

Endereço para correspondência

Marisa Gutjahr Kayser
Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre
Laboratório Central de Análises Clínicas
Rua Prof. Annes Dias 285, Porto Alegre, RS, Brasil 90020-090/
Telefone: (0xx51) 32148564-E-mail-risagk@santacasa.tche.br

Presença de *Enterococcus* sp. em alimento enteral e perfil de resistência a antimicrobianos*

Presence of *Enterococcus* sp. in enteral feeding and resistance profile to antimicrobials

Bernadete Helena Cavalcanti Santos^{1,2}, Evandro Leite de Souza³ & Isaura Oddi L. G. da Costa⁴

RESUMO – O gênero *Enterococcus* exerce papel emergente como causa de infecções adquiridas em ambientes hospitalares, tendo como um dos possíveis vetores de contaminação os alimentos enterais. Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar a ocorrência de *Enterococcus* sp. em amostras de alimentos enterais administrados em ambiente hospitalar, bem como, avaliar seu perfil de resistência frente à ação de agentes antimicrobianos. A presença de *Enterococcus* sp. foi detectada em amostras de alimentos enterais preparados artesanalmente e em amostras industrializadas envasadas e reconstituídas. Foi encontrado perfil de resistência de uma cepa de *Enterococcus* sp. à ação da tetraciclina. Estes dados evidenciam a manipulação como fator potencial de interferência na qualidade sanitária deste tipo de alimento.

PALAVRAS-CHAVE – *Enterococcus* sp., alimento enteral, perfil de resistência.

SUMMARY – *Enterococcus* species exert emergent role as causal agents of infection acquired in hospital environment. It has as possible vector of contamination the enteral feeding. Like this, the objective this work was to analyze the occurrence of *Enterococcus* sp. in enteral feeding administered in hospitals. It also was to evaluate their resistance profile to antimicrobial action. Presence of *Enterococcus* sp. was detected in samples of enteral feeding prepared of handmade form and in that industrialized packed samples and reconstituted. Resistance profile was found in one *Enterococcus* strain front the tetracycline action. These data evidence the handling as potential fact of interference in sanitary quality this feeding type.

KEYWORDS – *Enterococcus* sp., enteral feeding, resistance profile.

INTRODUÇÃO

O gênero *Enterococcus* inclui os enterococos clássicos previamente classificados como *Streptococcus* do grupo D de Lancefield. Estes microrganismos podem ser encontrados no solo, alimentos, água, plantas, animais de sangue quente, pássaros e insetos. Apresentam-se ainda como pertencentes à flora normal do trato gastrointestinal, biliar e genital feminino de humanos e outros animais (Murray, 1999; Koneman, 2001).

Caracterizam-se como bactérias lácticas na forma de cocos ou cocobacilos Gram-positivos. Atualmente são conhecidas dezenove espécies de *Enterococcus*, entre as quais se destacam: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. maloduratus*, *E. mundtii*, *E. avium*, *E. hirae* e *E. raffinosus* (Trabulsi, 2002). As espécies mais comumente encontradas em alimentos são *E. faecalis* e *E. faecium* (Ray, 1996).

Este gênero bacteriano constitui um importante grupo de microrganismos que se destacam, cada vez mais, como patógenos oportunistas. Os enterococos são importantes causadores de processos infecciosos adquiridos em ambientes hospitalares. Figuram como a segunda causa mais importante de infecções hospitalares e como terceira causa mais freqüente de bacteremia. A resistência a diversos agentes antimicrobianos contribui efetivamente para o poder de patogenicidade

destes microrganismos (Mackynlay, 1995). Relata-se o envolvimento dos enterococos em cerca de 10 a 12% das infecções hospitalares em geral, em 46% das infecções pós-operatórias, 10% das infecções urinárias e em 5 a 20% dos casos de endocardite infecciosa e os apontam como os cocos Gram-positivos mais comumente isolados de casos de bacteremias polimicrobianas (Trabulsi et al., 2002).

A forma de alimentação enteral é aceita como um método efetivo de prover suporte nutricional a pacientes hospitalizados que não podem satisfazer seus requerimentos nutricionais através de processo natural de ingestão de alimentos (Waitzberg, 1998). O estabelecimento de crescimento bacteriano em dietas enterais pode conduzir a complicações como infecções, septicemia, diarreia, pneumonia, e colonização do trato gastrointestinal. Ademais, tem-se relatado também ser uma fonte de infecção cruzada, particularmente em pacientes de unidades de tratamento intensivo (Anderton e Aidoo, 1991; Arias, 1999; Navajas, 1992).

A considerar que a prevalência de *Enterococcus* como agente de infecção hospitalar tem aumentado, a proposta desse estudo foi avaliar a contaminação por *Enterococcus* sp. em alimento enteral administrado em ambiente hospitalar, bem como, determinar o padrão de resistência deste microrganismo à ação de agentes antimicrobianos.

Recebido em 9/6/2003
Aprovado em 21/8/2003

*Pesquisa conduzida no Laboratório de Bacteriologia Clínica/Departamento de Ciências Farmacêuticas/Centro de Ciências da Saúde/UFPB-João Pessoa-PB

¹Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - CT/UFPB; ²Departamento de Ciências Farmacêuticas - CCS/UFPB

³Departamento de Nutrição - CCS/UFPB; ⁴Médica, especialista em Medicina Intensiva - AMIB

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas 30 amostras de alimento enteral administrado em hospitais da cidade de João Pessoa – Paraíba - Brasil. Deste universo, 15 amostras classificavam-se como artesanais e 15 como industrializadas. Este material foi coletado recém-preparado e em alíquotas de 100ml acondicionadas em frasco estéril. Para a realização das análises microbiológicas, inicialmente, foram preparadas diluições decimais seriadas das amostras de alimento enteral (10^0 - 10^{-3}) utilizando como diluente água peptonada 0,1% (Vanderzant e Splittstoesser, 1992). Após este procedimento, 0,1ml das diluições seriadas foram inoculadas em ágar azida sangue adicionado de 5% de sangue de carneiro (Murray, 1999). Este sistema foi incubado a 37°C/24-48hs. A partir do crescimento bacteriano foram selecionadas colônias características de *Enterococcus* a serem submetidas aos testes de confirmação. Os testes utilizados foram: coloração de Gram, catalase, crescimento na presença de bile, hidrólise da esculina e crescimento em 6,5% de NaCl. Os enterococos caracterizam-se como cocos Gram-positivos dispostos em pequenas cadeias, catalase negativo, capazes de crescerem na presença de bile, capazes de hidrolisar a esculina e, a maioria, é hábil em crescer na presença de 6,5% de NaCl (McFaddin, 1980).

As cepas identificadas como *Enterococcus* sp. foram submetidas ao teste de susceptibilidade a antimicrobianos através de método de difusão em meio sólido, processo difusão com discos (Bauer e Kirby, 1966).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da pesquisa da presença de *Enterococcus* sp. em amostras de alimento enteral estão apresentados na Tabela I. Observa-se uma frequência de 16,6% (5 amostras) de contaminação por *Enterococcus* sp. para as 30 amostras analisadas. As dietas preparadas artesanalmente apresentaram uma frequência de *Enterococcus* sp. de 13,3% (duas amostras), enquanto que nas dietas industrializadas a frequência desta bactéria foi de 20% (três amostras).

Dentre as dietas industrializadas, aquelas adquiridas de forma líquida, prontas para uso, não revelaram a presença desta bactéria. Este resultado está em conformidade com os resultados obtidos por McKinlay (1995). Entretanto, este autor ao analisar o resíduo de alimento enteral em sonda após 24 horas de administração detectou a presença de *Enterococcus faecalis* neste substrato. Este fato evidencia, provavelmente, que a própria microbiota endógena do paciente age como uma possível fonte de

contaminação do alimento enteral. A ausência de contaminação em dietas enterais obtidas de forma estéril, prontas para uso, contribui na redução da ocorrência de contaminação do paciente por agentes microbianos exógenos (McKinlay, 1995).

A contaminação por *Enterococcus* sp. em alimentos pode indicar práticas sanitárias inadequadas, bem como, exposição do alimento a condições que permitam a multiplicação de microrganismos indesejáveis. Como os enterococos são microrganismos típicos da microbiota intestinal de humanos e animais de sangue quente, a sua detecção frequentemente complementa as contagens de coliformes como indicação de contaminação fecal (Ray, 1996).

Bussy *et al.* (1992) analisando *in vivo* a contaminação microbiana do alimento enteral (AE) dentro da sonda durante a administração, encontraram 20 cepas de *Enterococcus* sp. Destas cepas 14 foram identificadas como *Enterococcus faecalis* e uma como *E. faecium*. Estes autores verificaram ainda a ocorrência de maior nível de contaminação nas dietas enterais que requeriam maior manipulação durante o preparo e administração. Esta particularidade está de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, onde o índice de contaminação foi superior nas amostras de dietas enterais artesanais e industrializadas reconstituídas.

Oliveira (2000) ao pesquisar contaminação por *Enterococcus* sp. de alimento enteral industrializado, reconstituído com água mineral, encontrou uma frequência de positividade em 50% das amostras analisadas. Estes resultados evidenciam a manipulação como vetor potencial de agentes microbianos patogênicos. Outras possíveis fontes de contaminação são os ingredientes do alimento, equipamentos e utensílios utilizados na preparação deste tipo de dieta.

A presença de diarreia em pacientes que fazem uso de alimentação enteral tem íntima relação com dietas enterais possuidoras de alta carga microbiana (Anderson *et al.*, 1984; Belknap *et al.*, 1990). Anderson *et al.* (1984) encontraram contagens acima de 10^5 UFC/ml em AE concomitante à presença de quadro de diarreia em seus usuários. Belknap *et al.* (1990) diagnosticaram a presença concomitante de *Enterococcus* sp. no AE, no aspirado gástrico e nas evacuações de pacientes com diarreia.

Enterococcus são emergentes patógenos e importantes fontes de infecção hospitalar, com recente aquisição de resistência a novos antibióticos (Xu, 1997). Os enterococos com resistência à vancomicina têm emergido durante os últimos anos, tornando-se importantes patógenos nosocomiais (Bonten *et al.*, 1996).

No teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSA), o método de difusão em disco caracteriza a bactéria como sensível, resistente ou possuidora de resistência intermediária a uma variedade de agentes antimicrobianos (Murray, 1999).

A maioria das cepas de *Enterococcus* sp. submetidas ao TSA apresentaram sensibilidade aos antibióticos teicoplanina, vancomicina, penicilina, ampicilina, tetraciclina e a altos níveis de gentamicina (120µg). Apenas uma cepa mostrou resistência à tetraciclina. De outra forma, todas as cepas testadas mostraram-se resistentes à ciprofloxacina. Bussy *et al.* (1992) ao submeter cepas de *Enterococcus* sp. isoladas de dietas enterais ao TSA, encontraram alta resistência à penicilina dife-

TABELA I
Presença de *Enterococcus* sp. em amostras de alimento enteral

Tipo de amostras	Nº total de amostras	<i>Enterococcus</i> sp.	
		Presente (nº de amostras)	Ausente (nº de amostras)
Artesanal	15	2	13
I.L.	10	0	10
I.L.E.	1	1	0
I.R.	4	2	2
Total	30	5	25

I.L.: Industrializada Líquida (pronta para uso); I.L.E.: Industrializada Líquida Envasada;
I.R. Industrializada Reconstituída.

rindo dos resultados obtidos neste estudo. Em ambos os trabalhos todas as cepas foram sensíveis a altos níveis de aminoglicosídeo.

A presença de *Enterococcus* sp. em alimentos indica condições higiênicas inaceitáveis durante a sua preparação e/ou processamento. Sendo um patógeno entérico oportunista, sua presença no AE pode vir a causar sérias doenças extra-intestinais (Oliveira, 2000).

Patchell *et al.* (1998) relataram a redução na incidência de contaminação do AE preparado e administrado tanto em hospitais como em ambiente domiciliar, após a introdução de um protocolo que envolve treinamento e práticas higiênicas para os profissionais envolvidos no seu preparo e administração.

A ocorrência de *Enterococcus* sp. nas amostras de AE que sofrem maior manipulação, mostram a necessidade de adoção de medidas preventivas de contaminação durante o preparo e administração deste alimento. Estas ações terão impacto direto na diminuição da ocorrência de complicações clínicas potencialmente sérias para a população muitas vezes imunodeprimidas que faz uso desta forma de alimentação como principal ou exclusiva fonte de nutrientes.

REFERÊNCIAS

1. Anderson, K.R. Bacterial contamination of tube-feeding formulas. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 8: 156-159, 1984..
2. Anderton, A.; Aidoo, K. E. The effect of handling procedures on microbial contamination of enteral feeds – a comparison of the use of sterile vs non-sterile gloves. *Journal of Hospital Infection*, 17: 297-301, 1991.
3. Arias, Ml. Microbiological contamination of enteral feeding solutions used in Costa Rica Hospitals. *Archivos Latino Americanos de Nutricion*, 4(49): 213-216, 1999.
4. Bauer, A.W., Kirby, W.M.M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:493-496, 1966.
5. Belknap, D. C.; Davidson, L. J.; Flournoy, D.J. Microorganismos and diarrhea in enterally feed intensive care unit patients. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 6(14): 369-373, 1990.
6. Bonten, J. M. Epidemiology of colonisation of patients an enviroment with vancomycin-resistant *Enterococcus*. *The Lancet*. 348: 1615-19, 1996.
7. Bussy, V., Marechal, F., Nasca, S. Microbial contamination of enteral feeding tubes occurring during nutritional treatment. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 16:552-557, 1992.
8. Koneman, E.W. *Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas Colorido*. São Paulo: Medsi, 2001. 1465p.
9. Mcfaddin, J. F. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. Baltimore: Ed. William e Wilkins, 1980. 624p.
10. Mckinlay, J. Endogenous bacterial contamination of enteral tube feeding systems during administration of feeds to hospital patients. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 8:3-8, 1995.
11. Murray, P.R. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington: Ellen Jo Baron, 1999. 1773p.
12. Navajas, F.M. Bacterial contamination of enteral feeds as a possible risk of nosocomial infection. *Journal of Hospital Infection*. 21:111-120, 1992.
13. Oliveira, M. H. Microbiological quality of reconstituted enteral formulations used in Hospitals. *Applied Nutritionl Investigation*. 16: 729-733, 2000.
14. Patchell, C.J. Reducing bacterial contamination of enteral feeds. *Archives Diseases Child*. 78:166-170, 1998.
15. Ray, B. *Fundamental food microbiology*. CRC Press:Washington, 1996. 515p.
16. Trabulsi, L.R, Alterthum, F.; Gompertz, O.F.; Candeias, J.A.N. *Microbiologia*. 3ª ed. 1999. 585p.
17. Vanderzant, C.; Splittstoesser, D.E. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3ª ed. Washington: American Public Health Association, 1992. 1219p.
18. Waitzberg, D.I. *Nutrição enteral e parenteral na prática clínica*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1998. 750p.
19. Xu, Y. *Enterococcus faecalis* antigens in human infections. *Infect. Immun.* 65: 4207-4215, 1997.

Endereço para correspondência

Drª Bernadete Helena Cavalcanti Santos

Rua Nicola Porto, 204, Manaíra – João Pessoa-PB - CEP: 58038-120

E-mail: bernadete@openline.com.br

Assessoria para cursos de extensão

A assessoria tem a finalidade de organizar, ministrar e incentivar a realização de cursos de educação continuada, reciclagem profissional, atualização, aperfeiçoamento e especialização (Pós-graduação *Lato sensu*, de acordo com as solicitações do CES-CNE/MEC).

Para tanto, será oferecido um conteúdo programático (programa em elaboração) constituído por módulos onde constarão os assuntos, a relação dos professores ministrantes e a carga horária. As regionais e delegacias poderão optar pelos módulos de maior interesse para a região, como por módulos que possam ser ministrados por professores no local a ser oferecido para o curso. Neste caso, o conteúdo do módulo e a titulação do professor ministrante deverão ser aprovados pela comissão assessora.

O conteúdo programático procurará contemplar o Programa aplicado à prova de obtenção do Título de Especialista em Análises Clínicas.

Comissão Assessora

Paulo J. Saraiva/UFRGS

(0xx51)3330-8289/3316-5244,

Amauri Simonetti/UFRGS

(0xx31)3233-6788

E-mail: simonetti@cpo-vo.net)

Arício Treitinger/UFSC

(0xx48)233-2720

Coordenador:

Antenor H. P. Pedrazzi/USP-RP

(0xx16)625-4970

E-mail: pedrazzi@cirp.usp.br

Homero J. J. Lopes/UFMG

(0xx31)3275-3756

E-mail: sac@goldanalisa.com.br.

Micologia Médica: uma área das Análises Clínicas que está em expansão

Medical Micology: an emergent subject in clinical analysis

Eliana Guilhermetti¹; Erika Seki Kioshima²; Cristiane Shinobu²; Sivaldo Camargo Silva³; Valdeci Aparecido Mota³ & Terezinha Inez Estivalet Svidzinski⁴

RESUMO – Micologia médica é uma área emergente em todas as partes do mundo. O presente trabalho visa mostrar o impacto desse serviço, em Maringá, através da experiência do setor de micologia do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC), Laboratório Escola da Universidade Estadual de Maringá. Foram avaliados os registros dos exames micológicos diretos e cultura para fungos, realizados entre 1992 e 2001, em pacientes ambulatoriais ou internados no Hospital Universitário. Estudo detalhado foi realizado com os registros dos anos 2000 e 2001. O número de exames anuais aumentou de 167 realizados até 1994 para 1441 em 2001. Foram analisados vários tipos de amostras biológicas permitindo o diagnóstico desde micoses superficiais até septicemias e meningites. Foram identificadas 50 espécies fúngicas diferentes, que podem ser agrupadas em 223 fungos dermatófitos, 332 leveduras, 58 fungos filamentosos não dermatófitos e 03 fungos dimórficos. O importante incremento observado e a alta prevalência de micoses oportunistas, com o isolamento de fungos considerados emergentes, mostram que a micologia médica desenvolvida em Maringá segue a tendência mundial e está no mesmo nível dos países desenvolvidos.

PALAVRAS-CHAVE – Micologia médica, micoses, fungos emergentes

SUMMARY – Medical mycology is an emergent subject in the entire world. This study shows its impact in Maringá, through the performance of the Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC), teaching in the laboratory of Universidade Estadual de Maringá. It was evaluated records of direct test and culture for fungus, made between 1992 to 2001 from ambulatory or interned patients. The number of the annual exams raised from 167 until 1994 and 1441 in 2001. There were analyzed many kinds of biological samples, allowing the diagnostic since superficial mycosis until septicemia and meningitis. Fifty different fungal species were identified, and they can be joined in 223 dermatophytes, 332 yeasts, 58 non dermatophytes and 3 dimorphics fungi. The increasing observed as well the high number of opportunist mycosis with the identification of emergent fungi, show that the medical micology in Maringá follows the world tendency in the same level of the developed countries.

KEYWORDS – Medical mycology, mycosis, emerging fungi.

INTRODUÇÃO

A micologia médica está em processo acelerado de crescimento e evolução no mundo todo¹⁸. Nas últimas três décadas, a relevância dessa área para a medicina moderna tem aumentado de maneira notável. As micoses evoluíram de quadros rotineiros e esperados para situações clínicas complexas e as vezes de alto risco.

Muitos fungos não considerados na literatura como agentes de doença humana, até muito recentemente, são agora importantes fontes de infecção para pacientes com algum grau de comprometimento imunológico. Os avanços da tecnologia médica tem permitido prolongar a vida de pacientes graves considerados terminais. Ao mesmo tempo que os tornam susceptíveis a uma gama de patógenos oportunistas, devido a imunossupressão que muitos procedimentos iatrogênicos produzem. Dentre os fatores de risco para as infecções fúngicas sistêmicas, podem ser destacados o emprego de imunossupressores em transplantes, a corticoterapia, antibioticoterapia prolongada e a quimioterapia de tumores, além das técnicas invasivas de diagnóstico e tratamento como radioterapias ablativas, grandes cirurgias e cateterismo. Processos patológicos como

AIDS, diabetes mellitus, neoplasias sólidas e hematológicas são as principais doenças de base envolvidas na predisposição às micoses oportunistas.

O presente trabalho está inserido na linha de pesquisa "Micologia humana e ambiental no processo saúde/doença" em desenvolvimento no LEPAC e tem o objetivo de conscientizar os profissionais da área de saúde para a relevância da micologia na medicina moderna.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho compreende um estudo retrospectivo realizado a partir dos registros de exames oferecidos pelo Setor de Micologia Médica do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC) num período de 10 anos (1992 a 2001).

A coleta de material biológico seguia as recomendações propostas por Garzón e cols⁷. Alguns materiais como líquido, sangue, aspirados e biópsias eram obtidos junto ao leito hospitalar pela equipe médica ou do laboratório do Hospital Universitário. Em termos ambulatoriais, o paciente era orientado a não fazer uso de antimicóticos, esmaltes ou quaisquer outras substâncias interferentes por pelo menos uma semana.

As amostras clínicas coletadas, eram submetidas à

Recebido em 3/9/2003
Aprovado em 22/9/2003

¹Bioquímica responsável técnica; ²Acadêmicas de Farmácia-Bioquímica; ³Técnicos de laboratório; ⁴Professor Adjunto.
Setor de Micologia Médica, Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas, Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá-PR

exame micológico direto (EMD) com KOH 20% + tinta ink blue Quink® e cultura para fungos. Para aquelas amostras dermatológicas utilizava-se uma série de 10 tubos contendo ágar Sabouraud com cloranfenicol e ágar Mycosel incubados a 25°C por um período de 30 dias. No caso de amostras obtidas de sítios estéreis, o emprego do ágar Mycosel era dispensado e as hemoculturas eram realizadas pelo Sistema Bactec®.

Após o crescimento, as culturas eram analisadas microscopicamente para a identificação dos isolados. Apenas eram consideradas relevantes as culturas com o mesmo isolado, em pelo menos três tubos da série. De outra maneira, as culturas eram consideradas contaminantes.

As culturas leveduriformes eram identificadas em meio ChroMágar® *Candida* (Probac)⁶ para separação inicial das espécies. Após isoladas em culturas puras, eram empregados métodos clássicos de identificação baseados em análises micromorfológicas e bioquímicas. Os fungos dimórficos obtidos de sítios profundos eram avaliados quanto à capacidade de reversão em fase leveduriformes e critérios micromorfológicos.^{3,8,11,12,1}

RESULTADOS

A evolução quanto ao número de exames micológicos realizados pelo Setor de Micologia Médica do LEPAC no período de 10 anos é mostrada na Fig. 1. É evidente o aumento progressivo das infecções compatíveis com micoses e que são encaminhadas para confirmação laboratorial. Até 1994 era realizado uma média de 167 exames/ano, já em 2001 esse número aumentou para 1441. Além do aumento quantitativo, foi observado um incremento com relação à diversidade de espécimes clínicos recebidos e, principalmente, de agentes isolados e identificados.

Em função da diversidade observada atualmente, optamos por apresentar com maiores detalhes nossa experiência em dois anos (2000 e 2001). Nesse período foram realizados 1661 exames dos quais (64%) foram positivos ou pelo exame micológico direto ou pela cultura ou ambos. De um total de 761 exames diretos realizados, 442 (58%) foram positivos. Quando se analisa a cultura, o percentual de positivos chega a 68% (Fig. 2).

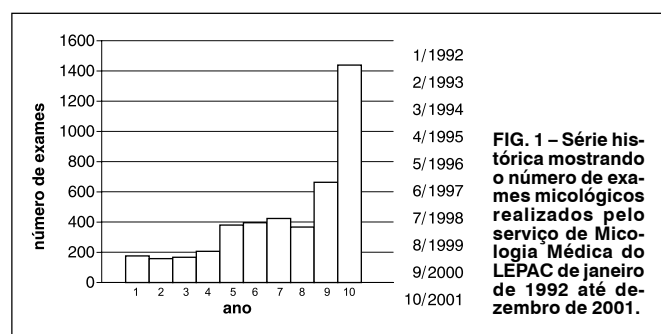


FIG. 1 – Série histórica mostrando o número de exames micológicos realizados pelo serviço de Micologia Médica do LEPAC de janeiro de 1992 até dezembro de 2001.

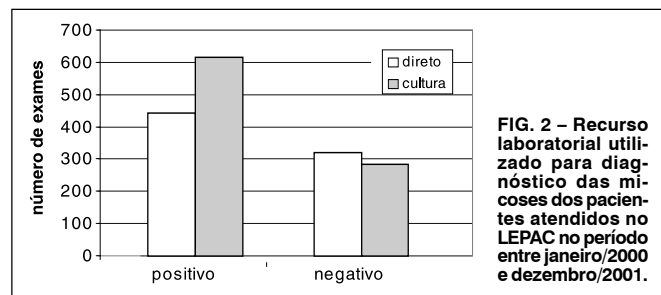


FIG. 2 – Recurso laboratorial utilizado para diagnóstico das micoses dos pacientes atendidos no LEPAC no período entre janeiro/2000 e dezembro/2001.

TABELA I
Frequência dos agentes (gênero e espécie) identificados no LEPAC entre janeiro/2000 a dezembro/2001

Agente etiológico	Nº	Agente etiológico	Nº
Dermatófitos		Leveduras	
<i>Epidermophyton floccosum</i>	4	<i>Candida albicans</i>	95
<i>Microsporum canis</i>	18	<i>Candida glabrata</i>	20
<i>Trichophyton fischeri</i>	7	<i>Candida guilliermondii</i>	8
<i>Trichophyton flavescens</i>	4	<i>Candida kefyr</i>	2
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	99	<i>Candida krusei</i>	2
<i>Trichophyton tonsurans</i>	9	<i>Candida lusitanae</i>	6
<i>Trichophyton rubrum</i>	76	<i>Candida parapsilosis</i>	82
<i>Trichophyton sp</i>	5	<i>Candida sp</i>	10
<i>Trichophyton vanbreuseghemii</i>	1	<i>Candida tropicalis</i>	55
FFND		<i>Cryptococcus neoformans</i>	2
<i>Alternaria alternata</i>	16	<i>Geotrichum candidum</i>	5
<i>Aspergillus niger</i>	2	<i>Malassezia furfur</i>	29
<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	1	<i>Malassezia pachydermatis</i>	1
<i>Fusarium chlamydosporum</i>	2	<i>Malassezia sympodialis</i>	1
<i>Fusarium incarnatum</i>	8	<i>Pityrosporum orbiculare</i>	1
<i>Fusarium oxysporum</i>	14	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3
<i>Fusarium sacchari</i>	3	<i>Trichosporon assahii</i>	6
<i>Fusarium solani</i>	8	<i>Trichosporon cutaneum</i>	2
<i>Fusarium tabacinum</i>	2	<i>Trichosporon inkin</i>	1
<i>Nattrassia mangiferae</i>	2	<i>Trichosporon ovoides</i>	1
<i>Nigrospora sp</i>	3		
<i>Paecilomyces javanicus</i>	1	Dimórficos	
<i>Phialophora parasitica</i>	1	<i>Histoplasma capsulatum</i>	1
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	2	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	1
<i>Syncephalastrum sp</i>	4	<i>Sporothrix schenckii</i>	1

FFND: Fungo filamentosso não-dermatófito

TABELA II
Frequência de agentes (por grupo) conforme a topografia das micoses em pacientes atendidos pelo LEPAC no período entre janeiro/2000 e dezembro/2001

Local	Levedura		Dermatófito		FFND		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Membro superior	10	3	10	5	4	7	24	3,9
Membro inferior	8	2	85	38	4	7	97	15,7
Face/boca	11	3	3	1	5	8	19	3,1
Tronco	25	8	7	3	0	0	32	5,2
Couro cabeludo	2	1	19	9	0	0	21	3,4
Urina	66	20	0	0	0	0	66	10,7
Líquidos corporais*	13	4	0	0	1	2	14	2,3
Pulmonar	25	8	0	0	3	5	28	4,5
Crural	7	2	12	5	0	0	19	3,1
Unha	144	43	87	39	40	66	271	44
Material não informado	2	1	0	0	0	0	2	0,3
Outros**	19	5	0	0	4	7	23	3,8
Total	332	53,9	223	36,2	61	9,9	616	100

FFND – Fungo filamentosso não-dermatófito.

* incluído: sangue, líquido e aspirados cavitários.

** incluídos: biópsia, secreção cervical, ponta de cateter, secreção purulenta, incisão cirúrgica, aspirado da cavidade abdominal, aspirado da ponta de sonda.

A realização de cultura seguida da identificação dos fungos isolados permitiu a identificação de 616 agentes compreendendo cerca de 50 diferentes espécies, assim distribuídas: 223 fungos dermatófitos, 332 leveduras, 58 fungos filamentosos não dermatófitos (FFND) e 3 fungos dimórficos (Tab. I). *T. mentagrophytes* foi o fungo isolado com maior frequência (16,1%), todavia o grupo predominante foi o das leveduras, com uma taxa de 54,0%.

A Tab.II apresenta o sítio anatómico e o agente fúngico isolado. As infecções superficiais e cutâneas (dermatomycoses) foram as prevalentes sendo que as onícomicoses corresponderam à forma clínica mais comum. A partir de amostras de unhas foram isolados 144 leveduras, 87 dermatófitos e 40 FFND.

DISCUSSÃO

O aumento da demanda pelo diagnóstico micológico é uma tendência mundial e os resultados obtidos no serviço de Micologia Médica do LEPAC e aqui apresentados são compatíveis com aqueles observados em

outros laboratórios nacionais^{15,16}, e internacionais^{5,14,17} o que pode ser comprovado através da Fig. 1. O aumento da demanda é atribuído, em parte às mudanças de hábitos impostos pela vida moderna, também ao maior nível de exigência dos pacientes que procuram resolver seus problemas de saúde, mesmo os mais simples e a população sempre crescente de imunocomprometidos^{1,2,19}.

Essa realidade atual passa a exigir dos laboratórios a capacitação necessária para corresponder à expectativa gerada por essa nova óptica da micologia médica¹⁸. Os laboratórios deverão investir na capacitação de recursos humanos tornando-os aptos para a execução de exames micológicos realmente confirmatórios. Lebowitz e cols.¹⁴ mostram que usando protocolos laboratoriais simples, semelhantes aos utilizados em nosso laboratório, é possível comprovar a presença de fungos em amostras clínicas da maioria dos paciente com diagnóstico diferencial sugestivo de micose.

A metodologia sugerida pela literatura internacional^{3,9,11,13} para o diagnóstico das micoses é baseada prioritariamente nas características morfológicas e, no caso das leveduras em algumas provas bioquímicas. Essas técnicas são de baixo custo e complexidade, porém, exigem habilidade prática do micologista. É importante salientar que, apesar de sua simplicidade, essa metodologia é a recomendada e utilizada em todo o mundo. Até o momento, nenhum equipamento automatizado substitui com segurança um micologista experiente. Porém, essa realidade não é de todo tranquilizadora, pois se por um lado a metodologia preconizada dispensa investimento financeiro, por outro, requer maior preparo, experiência e rigor técnico do profissional.

Em função dessa nova realidade, há uma preocupação mundial no sentido de sensibilizar os laboratórios clínicos e estimular publicações visando evidenciar a importância do treinamento e atualização dos profissionais. Autores também têm se preocupado com o ensino e treinamento da micologia médica^{5,17}, inclusive, há ensaios no sentido de estabelecer padrões e a adoção de exames de capacitação dos laboratórios de micologia²⁰.

De modo geral, o índice de confirmação laboratorial das micoses no LEPAC foi alto, pois (64%) dos exames realizados foram positivos. Contudo observou-se uma discrepância entre os resultados do EMD (positivo) e da cultura (negativa) que, segundo Lima e cols¹⁵ é admitida, uma vez que a distribuição dos fungos nas lesões é irregular e que é comum a presença de elementos fúngicos não viáveis ou escassos, em função de tratamentos prévios.

As dermatomicoses foram as mais prevalentes formas clínicas encontradas, sendo as unhas o principal sítio afetado (Tab.II). As onicomicoses apresentam frequência crescente em nosso laboratório e, seguindo um tendência mundial, tem sido isolado fungos leveduriformes e filamentosos não dermatófitos^{4,16,19,21}. Atualmente as onicomicoses representam aproximadamente 50% das alterações das unhas e 30% de todas as infecções fúngicas superficiais.

O preparo do paciente para a coleta de amostras biológicas condiciona favoravelmente o êxito da avaliação micológica⁷. Nos últimos anos temos seguido os cuidados sugeridos por esses autores com relação à suspensão de medicamento de uso tópico ou sistêmico incluindo talco e esmalte, o que seguramente tem contribuído para o alto percentual de resultados positivos.

Dos 616 agentes identificados em nosso laboratório, em dois anos 130, (21%) foram leveduras isoladas

a partir de pacientes hospitalizados. Ainda é recente, entre nós a valorização de fungos no contexto da infecção hospitalar, porém são cada vez mais frequentes os relatos nesse sentido. Essa alta porcentagem sinaliza às Comissões de Infecção Hospitalar a necessidade de estarem mais atentas ao grande número de infecções hospitalares causadas por fungos, que acometem pacientes graves imunocomprometidos ou não. O grupo das leveduras é o mais relevante, sendo responsável pela maioria das sepsis nosocomiais de origem fúngica¹. A alta morbidade e mortalidade dessas infecções comprovam a importância da conscientização dos profissionais de saúde sobretudo com relação à necessidade do apoio laboratorial, o que tem contribuído de maneira significativa para o sucesso terapêutico.

Considerando a relevância da micologia clínica para a comunidade médica e científica e o aumento da conscientização de infectologistas, oncologistas, hematologistas e intensivistas para o problema das micoses oportunistas, é primordial que o laboratório clínico esteja suficientemente preparado para assumir o aumento da demanda. Neste sentido, a formação de um corpo técnico especializado e a destinação de espaços físicos individualizados para a prática micológica devem ser priorizados para que, o quanto antes, o laboratório esteja capacitado a realizar exames micológicos com alto índice de qualidade.

REFERÊNCIAS

1. Cantón, E.; Viudes, A. & Pemán, J. - Infecção sistêmica nosocomial ou leveduras. *Rev. Iberoam. Micol.* 18: 51-55, 2001.
2. Del Palacio A., Pazos C., Cuetara S. Onychomycosis caused by non dermatophyte filamentous fungus. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 19(9):439-42, 2001.
3. Elewski, B. E. - Clinical pearl: diagnosis of onychomycosis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 32(3):500-501, 1995.
4. Elewski, B. E.; Leyden, J.; Rinaldi, M. G. & Atillasoy, E. - Office practice-based confirmation of onychomycosis: a US nationwide prospective survey. *Arch. Intern. Med.* 2002 Oct 14;162(18):2133-8.
5. Evans, E. G. V.; Bulmer, G. S.; Aly, R.; Coo-Barcelona, L.; Chakrabarti, A. de Elias-Costa, M. R. I. & Gugnani, H. C. Training medical mycologists in developing countries. *Medical Mycology* 38 (supplement 1): 33-40, 2000.
6. García-Martos, P.; García-Agudo, R.; Hernández-Molina, J. M.; Marin, P.; Tallero, E. & Mira, J. Identificación de leveduras de interés clínico en el medio de cultivo CHROMagar Candida. *Rev. Iberoam. Micol.* 15: 131-135, 1998.
7. Garzón, R.; Carballo, M. Muñoz, E. V. & Cipitelli, L. A. - La importancia de la preparación del paciente en el examen micológico de laboratorio. *Rev. Iberoam. Micol.* 15: 307-308, 1998.
8. Hoog, G. S. & Guarro, J. - Atlas of Clinical Fungi Centraalbureau voor Schimmelfcultures/ Universitat Rovira i Virgili, 1995.
9. Isenberg, H. D. - Clinical Microbiology Procedures Handbook Washington, American Society for Microbiology, 1992.
10. Kemna, M. E. & Elewski, B. E. Epidemiologic survey of superficial fungal diseases. *J. Amer. Acad. Derm.* 35: 539-542, 1996.
11. Kurtzman, C. P. & Fell, J. W. The Yeast. A taxonomic study. Amsterdam, Elsevier, 1998.
12. Lacaz, C. S.; Porto, E.; Heins-Vaccari, J. E. & MELO, N. T. - Guia para identificação Fungos, Actinomicetos, Algas de interesse médico. São Paulo, Sarvier, 1998.
13. Larone, D. H. Medically important fungi. A guide to identification. Washington, AMS Press, 1995.
14. Lebowitz, R. A.; Waltzman, M. N.; Jacobs, J. B.; Pearlman, A. & Tierno, P. M. - Isolation of fungi by standard laboratory methods in patients with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*, 112(12):2189-91, 2002.
15. Lima, E. O.; Pontes, Z. B. V. S.; Oliveira, N. M. C.; Carvalho, M. F. F. P.; Guerra, M. F. L. & Santos, J. P. - Frequência de dermatofitoses em João Pessoa - Paraíba, Brasil. *An. bras. Dermatol.* 74(2): 127-132, 1999.
16. Lopes, J. O.; Alves, S. H.; Mari, C. R. D.; Oliveira, L. T. O.; Brum, L. M.; Westphalen, J. B.; Furian, F. W. & Altermann, M. J. A ten-year survey of onychomycosis in the Central Region of the Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop.* 41: 147-149, 1999.
17. Negroni, R.; Ellis, D.; Bulmer, G.; Graybill, J. R. & Restrepo, A. Teaching medical mycology in the year 2000. *Medical Mycology* 36 (supplement 1): 106-108, 1998.
18. Neufeld, P. M. - Manual de Micologia Médica técnicas básicas de diagnóstico. Rio de Janeiro, Programa Nacional de Controle de Qualidade, 1999.
19. Pospisilova A. Onychomycosis-more than a cosmetic problem. *Cas Lek Cesk* 138: 166-169, 1999.
20. Reilly, A. A.; Salkin, I. F.; McGinnis, M. R.; Gromadzki, S.; Pasarell, L.; Kemna, M.; Higgins, N. & Salfinger, M. - Evaluation of mycology laboratory proficiency testing. *J. Clin. Microbiol.* 37(7): 2297-2305, 1999.
21. Schlefman, B. S. Onychomycosis: a compendium of facts and a clinical experience. *J. Foot Ankle Surg.*

Endereço para correspondência

Profª Terezinha Inez Estivalet Svidzinski.

R. Júlio Favoretto 35, Vila Esperança - 87020-600 - Tel.: (0xx44)263-1387 - Maringá-PR

tiesvidzinski@uem.br ou terezinha@email.com

RESUMO – O presente trabalho objetivou verificar a ocorrência de ovos de helmintos em amostras de fezes de animais coletadas em locais públicos de lazer em Aracaju – SE nos meses de janeiro e fevereiro de 2003. Foram coletadas amostras de 5 pontos de lazer da cidade, num total de 100 amostras. O material foi coletado em frascos plásticos e processados conforme a técnica de Hoffman, Pons e Janer apresentando os resultados: 52 amostras positivas e 48 negativas. Os ovos de helmintos encontrados foram *Toxocara* spp. 63,46% das amostras positivas e *Ancylostoma* sp. 36,54% das amostras. Todos os pontos de lazer pesquisados apresentaram contaminação por ovos de helmintos. Os helmintos encontrados são os principais agentes envolvidos na etiologia da larva migrans visceral e cutânea.

PALAVRAS-CHAVE – Fezes de animais, locais públicos, *Toxocara* spp., *Ancylostoma* spp., larva migrans.

SUMMARY – The present work objectified to verify the helminths eggs occurrence in animals excrements samples collected in public leisure places in Aracaju city in january to february, 2003. Samples of 5 leisure points of the city had been collected, in a total of a 100 samples. The material was collected in plastic bottles and processed as the Hoffman, Pons and Janer technique presenting 52 positive samples and 48 refusals. The helminths eggs found were *Toxocara* sp. 63.46% positive and 36.44% *Ancylostoma* spp. samples. All leisure points search, presented contaminations for helminths eggs. The helminths found are the main involved agents in the migrans visceral and cutaneous larva etiology.

KEYWORDS – Animals excrements, public places, *Toxocara* spp., *Ancylostoma* spp., migrans larva.

INTRODUÇÃO

A síndrome da larva migrans em geral está relacionada à presença de animais domésticos, especialmente cães e gatos, em locais públicos onde através do contato o homem pode se infectar com ovos ou larvas de parasitos próprios desses animais. Os principais agentes etiológicos envolvidos em casos de larva migrans cutânea e visceral são respectivamente, o *Ancylostoma* sp. e o *Toxocara* sp.

Os locais de lazer como praças, parques e praias podem funcionar como focos de infecção devido ao hábito das pessoas de levarem seus animais, em especial cães, para passear nesses locais, bem como devido à presença de animais vadios nesses pontos. As crianças são as mais freqüentemente acometidas, por brincarem com areia ou terra nesses locais de lazer.

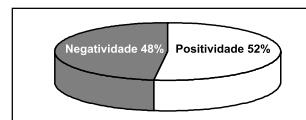
O presente estudo teve como objetivo verificar a ocorrência de ovos de helmintos em amostras fecais de animais coletadas em pontos de lazer na cidade de Aracaju – SE.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas amostras em 05 pontos públicos de lazer, coletando-se 20 amostras em cada ponto num total de 100 amostras. As amostras foram colhidas aleatoriamente durante dois meses, armazenadas em frascos

TABELA I e FIGURA 1 - Positividade das amostras

Resultados	%	Frequência
Positividade	52	52
Negatividade	48	48
Total	100	100



plásticos limpos e não-estéreis e enviadas ao laboratório para análise.

Os pontos de coletas das amostras foram: Parque da Sementeira, Orla da praia de Atalaia, Praça Ulisses Guimarães, Praça Tobias Barreto e Praça Dr. Celso Carvalho.

As amostras foram processadas através do método HPJ e em cada amostra foi realizada a leitura de três lâminas.

RESULTADOS

A prevalência de positividade das amostras examinadas está apresentada na Tab. I e Fig. 1 que indica 52% de amostras positivas e 48% de amostras negativas.

Das amostras analisadas, 20 foram de gatos, cujos resultados apresentaram 07 amostras positivas (35%). Nestas, 05 (71,43%) apresentaram *Toxocara* sp., e nas 02 outras positivas, foi encontrado o *Ancylostoma* sp.. Os resultados para amostras de gatos são apresentados na Tab. II e Fig. 2. O restante das amostras, isto é, 80 amostras, foram de fezes de cães sendo 45 positivas (56,25%). Destas foram detectadas em 28 amostras

Recebido em 9/9/2003

Aprovado em 22/12/2003

* Trabalho realizado na Clínica e Laboratório Diagnósticos Médicos e Serviços Especializados (DIMESE)

¹Biomédica da Clínica e Laboratório Diagnósticos Médicos e Serviços Especializados (DIMESE)

Total	100	45
-------	-----	----

TABELA IV e FIGURA 4 - Positividade por logradouro

Resultados	%	Frequência
Parque da Sementeira	28,84	15
Orla da Praia de Atalaia	25,00	13
Pç. Dr. Celso Carvalho	19,23	10
Pç. Ulisses Guimarães	15,39	08
Pç. Tobias Barreto	11,54	06
Total	100	52

1 - Parque da Sementeira
2 - Orla da Praia de Atalaia
3 - Pç. Dr. Celso Carvalho
4 - Pç. Ulisses Guimarães
5 - Pç. Tobias Barreto

TABELA V e FIGURA 5 - Parasitos encontrados

Parasitos	%	Frequência
<i>Toxocara sp</i>	63,46	33
<i>Ancylostoma sp</i>	36,54	19
Total	100	52

(62,22%) a presença de *Toxocara sp.* e nas outras 17 amostras positivas (37,78%) foi achado *Ancylostoma sp.*, conforme a Tab. III e Fig. 3.

Todos os pólos de lazer pesquisados apresentaram contaminação por um ou mais parasitos, sendo o Parque da Sementeira o que apresentou maior positividade com 15 (28,84%) das amostras coletadas, na sequência a Orla da praia de Atalaia com 13 (25%), Praça Dr. Celso Carvalho com 10 (19,23%), Praça Ulisses Guimarães com 8 (15,39%) e 06 (11,54%) de amostras positivas na Praça Tobias Barreto, conforme mostrado na Tab. IV e Fig. 4.

Em relação aos parasitos encontrados, a maior porcentagem foi de *Toxocara sp.* com 63,46% (33) das amostras contaminadas com o parasito, seguindo de *Ancylostoma sp.* com 36,54% (19), conforme apresentada na Tab. V e Fig. 5.

DISCUSSÃO

Os índices apresentados neste estudo, revelam um perfil próximo ao encontrado por Beugnet e Gadat em amostras de solo de áreas de lazer da Numéia, Nova Caledônia, onde foi observado 50% de positividade para ovos de *Toxocara sp.* e 40% de positividade para *Ancylostoma sp.*. Barbosa utilizando amostras fecais caninas e de áreas de lazer encontrou índice de 55% de positividade para *Toxocara sp.* no México.

Em estudo sobre a frequência de parasitos em amostras de fezes de gatos da região de Araçatuba – SP, Farias *et al* observaram 21,9% de positividade para ovos de *Ancylostoma sp.* e apenas 6,3% para ovos de *Toxocara sp.* No entanto, Costa-Cruz *et al* encontraram 23% de amostras positivas para ovos de *Toxocara sp.* em solo de praças públicas da cidade de Uberlândia – MG.

Santarém, Santos e Bergama em uma pesquisa so-

zes na cidade de Araçatuba – SP. O crescente número de animais de companhia, principalmente nos grandes centros, tem estreitado o contato entre esses e o homem, aumentando a exposição humana. O risco de infecção relaciona-se à intensidade e duração da exposição, aliados com nível socio-cultural e padrão comportamental do indivíduo. No entanto, o tamanho da população de animais domésticos e a contaminação do solo por ovos infectantes são fatores preponderantes para a aquisição da síndrome da larva *migrans* cutânea ou visceral.

Os índices apresentados neste estudo retratam a necessidade de adoção de medidas profiláticas para controle dos índices de contaminação de locais públicos, tais como: limpeza periódica de parques infantis ou até mesmo, proibição do acesso de animais a locais públicos, além de medidas preventivas de cunho teórico como palestras educativas que visem conscientizar os proprietários de cães e gatos sobre o problema de parasitose.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Tarciso José Carneiro Leão, do DIMESE, pelo apoio técnico fornecido.

REFERÊNCIAS

- Barbosa, I. M. Frequency of *T. canis* in dogs and green areas in the south of Mexico City. *Veterinário*. 29(3): 239-244, 1998.
- Beugnet, F; Gadat, R. Recherche d'œufs de *Toxocara sp.* Et de larves d' *Ankylostoma sp.* Dans le sol a Nouméa, Nouvelle – Calédonie. *Rev. Med. Vet.* 144:523-525, 1993.
- Cimerman, B; Cimerman, S. Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais. São Paulo: Atheneu Biblioteca Biomédica, 1999. 273-277.
- Costa – Cruz, J; Nunes, R. S.; Buso, A. G. Presença de ovos de *toxocara sp.* em praças públicas da cidade de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. *Rev. Inst. Méd. Tropical São Paulo*. 36: 39-42. 1994.
- Farias, N. A.; Christovão, M. L.; Stubbe, N. S. Frequência de parasitas intestinais em cães (*Canis familiaris*) e gatos (*Felis gatus domestica*) em Araçatuba, São Paulo. *Brás. J. Vet. Parasitology*. 1995. 4: 57-60.
- Ferreira, A. W.; Ávila, S. L. M. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.
- Iglesias, J. D. Aspectos Médicos das parasitoses humanas. Porto Alegre: Medsi, 1999.
- Konemam, E. W. *et al.* Diagnóstico microbiológico texto e Atlas. 5ª ed. Porto Alegre: Medsi, 2001.
- Neves, D. P. *et al.* Parasitologia humana. 10ª ed. São Paulo: Atheneu Biblioteca Biomédica, 2001. 244-248.
- Nunes, C. *et al.* Ocorrência de larvas migrans na areia de áreas de lazer das escolas municipais de ensino infantil, Araçatuba, SP, Brasil. *Rev. Saúde Pública*. 34(6), 2000.
- Markell, E. K.; John, D. T.; Krotoski, W. A. Markell and Voge's Medical Parasitology. 8. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1999; 279-283, 345-348.
- Mins, C. A. *et al.* Microbiologia médica. São Paulo: Mande, 1995.
- Rey, L. Parasitologia médica. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- Santarém, V. A.; Santos, I. F.; Gergamo, F. M. M. Contaminação por ovos de *T. canis* de parques e praças públicas de Botucatu, São Paulo, Brasil. *Rev. da Socied. Brás. De Méd. Tropical*. 31(6): 529-532, 1998.
- Orguahart, G. *et al.* Parasitologia veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
- Veronesi, R.; Focaccia, R. Tratado de infectologia. São Paulo: Atheneu, 1997. Vol. 2, 1429-1431.

Coleta de células-tronco hematopoéticas periféricas para transplante autólogo de medula óssea em pacientes com linfoma de Hodgkin*

Collection of peripheral blood stem cells for autologous bone marrow transplantation in patients with Hodgkin's lymphoma

Valúcia Scapin¹ & José Edson Paz da Silva²

RESUMO – Quatorze pacientes com diagnóstico de linfoma de Hodgkin, atendidos no Hospital Universitário de Santa Maria, no período de dezembro/1996 a julho/2002 foram submetidos à coleta de células-tronco hematopoéticas periféricas, que posteriormente foram criopreservadas. Desses, 8 pacientes foram a transplante autólogo de medula óssea. Constatou-se a “pega” medular no grupo transplantado, verificando-se rápida recuperação da hematopoiese, o que demonstra a adequação dos procedimentos adotados.

PALAVRAS-CHAVE – Transplante de medula óssea, célula-tronco hematopoética periférica, linfoma de Hodgkin.

SUMMARY – Fourteen Hodgkin's lymphoma patients, treated at the University Hospital of Santa Maria from December, 1996 to July 2002, underwent the harvest of peripheral blood stem cells, which were after cryopreserved. Eight patients underwent the autologous bone marrow transplantation. The medular engraftment was verified in the transplanted group, as well as a fast recovery of the hematopoiesis. This fact demonstrates the adequacy of the adopted procedures.

KEYWORDS – Bone marrow transplantation, peripheral blood stem cell, Hodgkin's lymphoma.

INTRODUÇÃO

O transplante autólogo de medula óssea consiste na infusão de células progenitoras hematopoéticas do próprio paciente, coletadas e criopreservadas e posteriormente armazenadas para serem infundidas, após intenso condicionamento com quimioterapia, com ou sem radioterapia⁷. A criopreservação tem por objetivo preservar o tecido vivo, de maneira que esse possa, ao ser reconstituído, recuperar-se com alto grau de viabilidade e integridade funcional, sem induzir toxicidade ao organismo¹.

O padrão ouro usado para definir célula progenitora hematopoética consiste na sua habilidade de reconstituir a função medular, depois de irradiação letal. Essa reconstituição hematopoética, depois do transplante, é referida como enxertamento^{3,11}.

Etapas do transplante de medula óssea:

- Mobilização e coleta de medula óssea ou célula-tronco
- Condicionamento com quimioterapia com ou sem radioterapia
- Pega e recuperação medular².

As máquinas de citaférese utilizadas para coletar plaquetas e granulócitos são também utilizadas para coletar as células progenitoras hematopoéticas do sangue periférico^{1,7,9}. A duração, a frequência e o momento dos procedimentos de coleta das células-tronco periféricas dependem das características do equipamento utilizado, das características do paciente e do tipo de protocolo terapêutico^{1,7}.

As células-tronco habitam a medula óssea e estão presentes em sangue periférico em quantidade baixa. Elas podem ser mobilizadas da medula óssea para o sangue com infusão de estimuladores de formação de colônias (GM-CSF, G-CSF), e dessa forma aumentar significativamente à sua concentração na circulação, associado ou não ao uso de quimioterápicos. Mais recentemente, sabe-se que o cordão umbilical também é uma fonte de célula progenitora.^{2,3,7,9,10,11}

As células-tronco periféricas são caracterizadas e quantificadas com auxílio de citômetros de fluxo, utilizando-se anticorpos monoclonais específicos, anti-CD34. São células marcadas fenotipicamente como CD34+^{1,3,4,6,7,9}.

Numerosos estudos têm demonstrado que, após o condicionamento, um descongelamento rápido é desejável para a sobrevivência das células progenitoras hematopoéticas e, uma vez descongeladas, elas são infundidas direta e rapidamente, em via de acesso venoso central^{1,4}.

Considera-se como dia (0), aquele em que o paciente recebe as células-tronco e, geralmente, a recuperação ocorre entre os dias +12 a +15 após a infusão¹.

Denomina-se “pega” medular, o momento onde a contagem plaquetária é mantida acima de 20.000/mm³ por três dias seguidos sem a necessidade de transfusão e os granulócitos estão acima de 500/mm³, também por três dias consecutivos².

Recebido em 27/6/2003

Aprovado em 24/9/2003

*Trabalho realizado no Laboratório do Serviço de Hematologia do Hospital Universitário da Univ. Fed. de Santa Maria– RS

¹ Servidora da Univ. Fed. de Santa Maria/Farmacêutica aluna do Curso de Especialização em Laboratório Clínico – Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – CCS – UFSM

² Professor Titular de Hematologia/Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas/UFSM

Entre as indicações para transplante autólogo estão os linfomas, tumores sólidos e leucemias mielóides agudas em remissão^{1,7}.

MATERIAIS E MÉTODOS

Quatorze pacientes com linfoma de Hodgkin foram submetidos a coleta de células-tronco hematopoiéticas por leucoafereze após mobilização com G-CSF , associado ou não à quimioterapia. Após cada coleta, a amostra obtida foi encaminhada para processamento, criopreservação e armazenamento até o momento da infusão (Fig. 1).

O processamento foi realizado em capela de fluxo laminar e a solução de criopreservação, composta de 60% RPMI 1640, 20% de plasma autólogo e 20% de DMSO (dimetil sulfoxido), foi misturada às células-tronco na proporção de 1:1, com concentração final de DMSO 10%. Após, a amostra foi submetida a um congelamento programável com nitrogênio líquido por uma hora (Fig. 2).

Terminada esta etapa, transferiu-se a amostra rapidamente para um tanque com nitrogênio líquido para ser armazenada na fase de vapor até a infusão (Fig. 3).

A cada coleta, verificou-se o controle de qualidade através das contagens de células totais e mononucleares (método automatizado), determinação de células CD34+ por citometria de fluxo, viabilidade celular e cultura microbiológica antes e após a manipulação da amostra.

Oito pacientes foram submetidos ao transplante de medula óssea, com as bolsas criopreservadas descongeladas em banho a 38°C e imediatamente infundidas em catéter venoso central, utilizando equipo sem filtro.

O regime de condicionamento adotado, antes da infusão de células, foi CVB (Ciclofosfamida, Etoposíde, Carmustina), sendo que dois pacientes receberam também irradiação corporal total.

RESULTADOS

Os dados obtidos demonstraram o potencial de recuperação medular das células-tronco periféricas, após mobilização, coleta por leucoafereze, criopreservação e infusão.



FIG. 1 - Amostra recebida

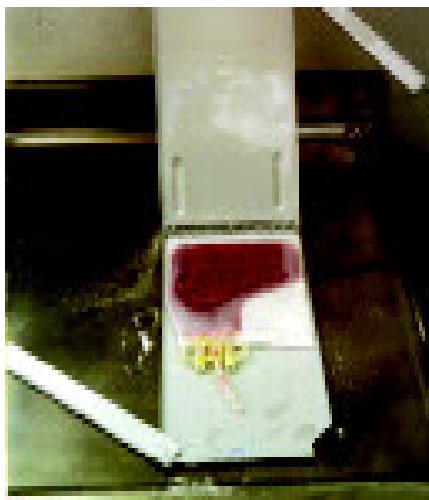


FIG. 2 - Amostra criopreservada



FIG. 3 - Armazenamento das amostras

TABELA I
Resultados obtidos na coleta de células-tronco

Paciente	Gen/Idade	Nº Aferese	Químio	GCSF/dias	MNC (10 ⁶ /kg)	CD34+ (10 ⁶ /kg)
01	M/25	03	não	03	11,93	1,69
02	F/27	04	não	03	9,22	9,41
03	F/25	05	12	03	10,58	2,62
04	F/26	04	não	06	12,93	1,38
05	M/15	03	13	04	9,46	12,29
06	M/31	03	12	04	6,46	4,46
07	M/23	03	não	03	10,96	4,24
08	M/14	03	não	03	8,91	4,86
09	M/23	04	não	03	22,06	2,75
10	M/30	03	12	04	8,07	11,34
11	F/23	03	10	02	11,11	16,08
12	F/24	04	12	05	19,14	2,19
13	M/56	02	11	04	3,32	6,67
14	M/18	02	14	05	11,73	10,77
Média					11,13	4,66
Desvio-padrão					4,73	4,67

(MNC = Mononucleares; Químio = Dias pós-quimioterapia)

TABELA II
Resultados obtidos na infusão de células-tronco

Paciente	CD34x10 ⁶ /kg (infusão)	GRAN >500/mm ³	PLAQ >20.000/mm ³
01	1,69	+11	+12
02	8,52	+11	+21
03	1,49	+11	+14
05	6,23	+08	+11
06	4,46	+12	+11
10	4,01	+10	+10
11	6,33	+10	+07
13	6,67	+09	+08
Média	5,34		
Desvio-padrão	2,47		

PLAQ = Contagem de plaquetas/ GRAN = Contagem de granulócitos

A leucoaférese foi iniciada entre o 2º e o 6º dia de uso de G-CSF, com 8 pacientes, pós-quimioterapia.

Foram realizadas entre duas a 5 coletas de células-tronco por paciente, totalizando 46 procedimentos. A quantidade de células mononucleares coletadas por paciente ficou entre 3,32x10⁶/kg e 22,06x10⁶/kg (média: 11,13), enquanto que a quantidade mínima de células CD34+ obtidas por paciente foi de 1,38x10⁶/kg e a máxima de 16,08x10⁶/kg (média: 4,66).

TABELA III
Evolução dos pacientes

Paciente	Coleta	Transplante	Evolução
01	dezembro/96	fevereiro/97	curado
02	março/97	abril/97	óbito(ago/97)
03	maio/97	julho/97	óbito(jan/02)
04	fevereiro/98	***	encaminhado para outro Centro
05	novembro/98	janeiro/99	sem follow-up
06	maio/99	julho/99	em controle
07	agosto/99	não	sem evidência de doença
08	maio/98	não	sem evidência de doença
09	junho/00	não	sem evidência de doença
10	abril/01	maio/01	em controle
11	fevereiro/02	março/02	com doença em atividade
12	maio/02	não	sem evidência de doença
13	maio/02	julho/02	em controle
14	julho/02	não	encaminhado para transplante

Nos transplantados, o número de células CD34+ mínimo infundido foi $1,49 \times 10^6/\text{kg}$ e o máximo infundido foi $8,52 \times 10^6/\text{kg}$ (média: 5,34). Todos apresentaram contagem granulocítica superior a $500/\text{mm}^3$, num período inferior a 15 dias (variação 8-12). A contagem de plaquetas superior a $20.000/\text{mm}^3$, também foi observada num período inferior a 15 dias (variação 7-14), com a exceção de um paciente (21 dias).

A Tab. III demonstra a evolução de todos os pacientes, destacando entre os 8 transplantados, um curado e três em controle; enquanto que, entre os 6 não transplantados, 4 pacientes sem evidência de doença.

DISCUSSÃO

O uso de quimioterapia em altas doses seguido do resgate hematopoético com células-tronco periféricas autoplásticas tem proporcionado a cura de pacientes com determinados tipos de neoplasias. A grande totalidade dos Centros de Transplante de Medula Óssea, utiliza a coleta de células-tronco periféricas como método preferencial de resgate desses pacientes tratados com quimioterapia em altas doses.

Nesse relato, na maioria dos pacientes em que as células-tronco foram mobilizadas com G-CSF associado à quimioterapia (pacientes 3, 5, 6, 10, 11, 12, 13 e 14), obteve-se coletas com maior número de células CD34+ (média: $8,76 \times 10^6/\text{kg}$), em comparação com os demais, em que as células-tronco foram mobilizadas somente com G-CSF (média: $3,49 \times 10^6/\text{kg}$), demonstrando que o primeiro esquema é mais efetivo para promover a circulação de células CD34+.

No grupo transplantado, a concentração média de células CD34+ infundida foi de $5,34 \times 10^6/\text{kg}$, bem superior aos $2,0-2,5 \times 10^6/\text{kg}$ necessários para uma eficaz e sustentada recuperação hematopoética.

De acordo com a literatura, existe uma correlação entre o número de células CD34+ infundido e a recuperação hematopoética do paciente e, não sendo desejável a infusão de concentrações inferiores a $2,0 \times 10^6$ células CD34+/kg. Porém, em dois casos (pacientes 1 e 3), a infusão de $1,49$ e $1,69 \times 10^6$ células CD34+/kg, não atrasou a recuperação medular desses pacientes.

Nas últimas três décadas, os progressos efetuados na radioterapia e o desenvolvimento da quimioterapia de combinação eficaz resultaram na cura de mais de 75% de todos os pacientes recém-diagnosticados com linfoma de Hodgkin⁸. Os melhores resultados do transplante são em pacientes com doença quimiorresponsiva por ocasião da recidiva, que receberam poucas terapias anteriores, que possuem um bom estado de desempenho e que não têm doença volumosa ou comprometimento ósseo ou medular^{5,8}.

A recuperação medular observada nos pacientes transplantados e ficou dentro do período de tempo citado na literatura. Os óbitos referidos na Tab. III foram por intercorrências posteriores ao resgate hematopoético desses pacientes. O uso de transplante autólogo de medula óssea como terapêutica associada à quimioterapia de ablação, sem dúvida, trouxe novo horizonte aos pacientes com diagnóstico de linfoma. Na análise final dos dados, pode-se afirmar que os resultados obtidos, bem como, os métodos utilizados, são semelhantes aos mencionados na literatura.

CONCLUSÃO

Os esquemas adotados para mobilização, coleta e criopreservação de células-tronco mostraram-se eficazes e o rendimento de células CD34+ obtido foi suficiente em todos os pacientes para a realização do transplante autólogo de medula óssea. Nos pacientes transplantados, o número de células CD34+ infundido garantiu uma rápida e segura recuperação medular, mesmo nos dois casos cuja infusão tinham concentrações inferiores a $2,0 \times 10^6$ células CD34+/kg

AGRADECIMENTOS

Aos médicos do Serviço de Hemato-Oncologia do Hospital Universitário de Santa Maria, Dr. Dalnei Veiga Pereira e Dr. Juarez Chiesa.

BIBLIOGRAFIA

1. Aves, Adelson, Masumoto, Celso, Masumoto, Sally. Manual Prático de Processamento de Células-Tronco Periféricas 2001. São Paulo: Jorge Costa, 2001.
2. Anelli, Agnaldo. Transplante de Medula Óssea. Centro de Tratamento e Pesquisa. Hospital do Câncer - AC Camargo. Departamento de Oncologia Clínica. Disponível em: www.hcanc.org.br/oncol1.html. Acesso em: 4 de nov. 2002.
3. Cottler-Fox, Michele. Hematopoietic progenitor Stem Cells. In: Burt, Richard K., Deeg, Joachim H., Lathian, Scott T., et al. Bone Marrow Transplantation. R. G. Landes Company, 1996. 3:2:69-75.
4. Cottler-Fox, Michele. Marrow Processing and Cryopreservation. In: Burt, Richard K., Deeg, Joachim H., Lathian, Scott T., et al. Bone Marrow Transplantation. R. G. Landes Company, 1996. 3:4:86-92.
5. Homs, Carlos M. Transplante de Medula Óssea para Tratamento dos Linfomas. Abordagem Clínica e Indicações. Disponível em: www.miranet.com.br/medicina/livro/tratinfomas.htm. Acesso em: 4 de nov. 2002.
6. Masumoto, Celso M., Mendrone, Alfredo J., Carbonell, Ana L., et al. Mobilização e Coleta de Células-Tronco Hematopoéticas de Sangue Periférico. Rev. Hem. e Hemot., 1996. 2:24-27.
7. Petrilli, Antônio S.; Seber, Adriana; Oliveira, José Salvador R.; Cecyn, Karin Z.; et al. Manual do I Curso de Processamento de Células Progenitoras Hematopoéticas para Transplante de Medula Óssea. Instituto de Oncologia Pediátrica. UNIFESP. São Paulo, 2000.
8. Portlock, Carol S., Yahalom, Joachim. Hodgkin's Disease In: Cecil, R. L., Bennett, J. Claude, Goldman, Lee. Textbook of Medicine, 21ª ed, W.B. Saunders Company, 2000. p. 969-77.
9. Scott, Rowley D. Practical Aspects of Stem Cell Collection. In: Hoffman, Ronald, Benz, Edward J., Shattil, Sanford J., et al. Hematology. Basic Principles and Practice. 3ª ed. New York: Churchill Livingstone, 2000. p. 1642-58.
10. Seber, Adriana. Transplante de Células Progenitoras. Revista Âmbito Hospitalar, 1999, 121: 5-10.
11. William, J. Beutler, Ernest, Lichtman, Marshalla, Coller, Barry S., et al. Hematology. 6ª ed. New York: Mc Graw-Hill Companies, 2001.

Endereço para correspondência

Prof. José Edson Paz da Silva

Universidade Federal de Santa Maria

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas Campus Universitário – Camobi Santa Maria – RS 97105-900

Inteligência computacional avaliando o risco coronariano

Computational intelligence evaluating coronary arterial risk

Aldir R. Perozin, Geny A. Cantos, Cláudia S. M. Silva, Maria da Graça Balen, Elisabeth M. Hermes, Carmen D. A Waltrick, Rosilene L. Dutra & José Mazzucco Junior.

RESUMO – Apesar de estarmos numa época de tecnologia e de avanços em estudos e diagnósticos em relação à doença arterial coronária (DAC), a realidade é que tal patologia ainda representa a principal causa de mortalidade e morbidade no mundo ocidental. Neste trabalho foi explorada a potencialidade das redes neurais e Lógica Fuzzy no estudo de fatores de risco de doenças arteriais coronarianas. Na sua forma mais geral, uma *rede neural*, é uma máquina que é projetada para *modelar* a maneira como o cérebro realiza uma tarefa particular ou função de interesse, por meio da sua propriedade de “aprender” a partir de um conjunto de dados de entrada. Participaram deste estudo 33 indivíduos funcionários da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), no mês de maio de 2001. A partir de dados clínicos e laboratoriais obtidos desses pacientes (idade, sexo, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, triglicerídeos, tabagismo, Hipertensão Arterial Sistêmica, *Diabetes mellitus*, massa corporal, estatura, perímetro da cintura e do abdômen) se calculou o índice de massa corporal, índice cintura quadril, relação colesterol/HDL-colesterol e também o risco para doença arterial coronariana. Neste estudo aplicando a Teoria de *Fuzzy Sets* (Conjuntos Difusos ou Nebulosos) aos princípios da lógica clássica e resultados da rede neural sobre este conjunto de dados, foi possível determinar um valor percentual pertinente ao grau de risco de doença coronária de cada indivíduo. Conclui-se que o sistema proposto mostrou maior potencialidade em relação a forma tradicional de avaliação para DAC.

PALAVRAS-CHAVE – Doença arterial coronariana, fatores de riscos, redes neurais.

SUMMARY – In spite of technology time and progresses in studies and diagnoses in relation to the coronary arterial disease, the reality is that such pathology still represents the main mortality cause and morbidity in occidental world people. In this work neural networks and Fuzzy Sets potentiality were explored in the study of coronary artery disease (CAD) risk factors of. In its more general form, a neural network is a machine that is projected to model the way as the brain accomplishes a private task or function of interesting, through its property of “learning” from a group of entrance data. Participated in this study 33 employees from Federal University of Santa Catarina in May, 2001. Clinical and blood examination dates from those 33 subjects (age, sex, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, blood pressure, Diabetes mellitus, body weight and height, waist and hip circumference) it was calculated body mass index, waist-to-hip ratio, cholesterol/HDL-cholesterol and also coronary arterial disease risk. In this work it was applied the results of the neural networks over a training data and it was possible to determine an adequate percentile value to the degree of risk of each individual's coronary artery disease, taking into account preexisting clinical and blood examination data.

KEYWORDS – Coronary arterial disease, risk factors, neural networks.

INTRODUÇÃO

A inteligência computacional (IC) é o desenvolvimento de paradigmas ou algoritmos que requeiram máquinas para realizar tarefas cognitivas, para as quais os humanos são atualmente melhores. Um sistema de IC deve ser capaz de realizar três funções:

- 1) armazenar conhecimento,
- 2) aplicar o conhecimento armazenado para resolver problemas e
- 3) adquirir novo conhecimento pela experiência (Sage, 1990).

O trabalho em redes neurais artificiais é uma modalidade de IC e tem sido motivado pelo reconhecimento de que o cérebro humano processa informações de uma forma inteiramente diferente do computador digital convencional. Na sua forma mais geral, uma *rede neural* é uma máquina que é projetada para modelar a maneira como o cérebro realiza uma tarefa particular ou função de interesse. A rede é normalmente implementada utilizando-se componentes eletrônicos ou é simulada por programação em um computador digital. (Anderson, 1995).

Pelos neurônios, o cérebro tem a capacidade de organizar seus constituintes estruturais, de forma a realizar certos

processamentos, como por exemplo, o reconhecimento de padrões, e a percepção e controle motor, muito mais rapidamente que o mais veloz computador digital hoje existente (Barreto, 1997).

As *sinapses* são unidades estruturais e funcionais elementares que medeiam as interações entre os neurônios. Em um cérebro adulto, a plasticidade e a capacidade do sistema nervoso em desenvolvimento adaptar-se ao meio ambiente, pode ser atribuída a dois mecanismos: a criação de novas conexões sinápticas entre neurônios e a modificação das sinapses existentes. Estima-se que haja aproximadamente 10 bilhões de neurônios no córtex humano e 60 trilhões de sinapses ou conexões. O resultado é que o cérebro é uma estrutura extremamente eficiente (Eberhardt, 1996).

Uma rede neural se assemelha ao cérebro pelo conhecimento adquirido pela rede, a partir de seu ambiente, através de um processo de aprendizagem e pelas forças de conexão entre os neurônios, conhecidos como pesos sinápticos, que são utilizados para armazenar o conhecimento adquirido. O procedimento utilizado para realizar o processo de aprendizagem é chamado de *algoritmo de aprendizagem* e sua função é modificar os pesos sinápticos da rede de uma forma ordenada para alcançar um objetivo de projeto desejado (Haykin, 2001).

Recebido em 07/7/2003
Aprovado em 24/12/2003

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa, Ensino e Assistência a Dislipidemia - NPIPEAD

Uma rede neural extrai seu poder computacional por meio de sua estrutura maciça e paralelamente distribuída e de sua habilidade de aprender, portanto, de generalizar. A *generalização* se refere ao fato de que as redes neurais produzem saídas adequadas para entradas que não estavam presentes durante o treinamento (aprendizagem). Essas duas capacidades de processamento de informação permitem que as redes neurais resolvam problemas complexos (de grande escala) que são muitas vezes considerados intratáveis (Haykin, 2001).

Os neurônios artificiais utilizados para construir as redes neurais são realmente primitivos em comparação aos encontrados no cérebro. Contudo, os mesmos constituem unidades de processamento de informação, que são fundamentais para a operação de tais redes.

A Fig. 1 mostra um exemplo de rede neural, contendo duas entradas (I_1 , I_2) e uma saída (O_1), duas camadas (níveis) de neurônios, sendo que no nível 1 contém 2 neurônios (N_1 , N_2) e no nível 2 apenas 1 neurônio (N_3).

A Lógica Fuzzy, que é a aplicação da Teoria dos Conjuntos Difusos ou Nebulosos (*Fuzzy Sets Theory*), tem merecido um lugar de destaque junto às pesquisas da área de Inteligência Artificial (I.A.), pois possibilita alterar a fundamentação da lógica bivalente (falso/verdadeiro), por considerar o conceito de verdade parcial. Esta teoria tem duas características básicas, acurácia e precisão, tratando de forma mais adequada um problema muito importante referente à representação e manipulação de conhecimentos em I. A. (Kosko, 1992).

Em muitas situações encontradas na prática, como, por exemplo, no diagnóstico médico, o conhecimento disponível é incompleto ou inexato. Em tais situações, são utilizados procedimentos de raciocínio probabilístico, permitindo deste modo que o sistema de inteligência computacional lide com incertezas (Pearl, 1988; Russell e Norvig, 1995).

A doença arterial coronariana (DAC) é um problema de crescente prevalência, principalmente nos grandes centros e nas populações de faixa etária mais elevada, ocorrendo um aumento de mortalidade em função da mesma. Apesar de estarmos numa época de tecnologia e de avanços em diagnósticos e terapêuticos em relação à doença arterial coronária, a realidade é que tal patologia ainda representa a principal causa de mortalidade e morbidade nos países ocidentais e será, sem dúvida, alvo de muita atenção no novo milênio (Porto, 1998; Roger *et al.*, 2002). Um dos aspectos da doença arterial coronariana (DAC) que traz particular preocupação é que muitas vezes o óbito ocorre como sua primeira manifestação, tornando, portanto, inútil qualquer forma terapêutica. Assim, o modo mais eficaz de combater esse problema é prevenir o seu aparecimento, desenvolvendo a profilaxia. (Zanchetti, 1997).

A doença aterosclerótica é considerada multifatorial e a sua prevenção passa pela identificação do conjunto dos fatores de risco. Este é um conceito moderno o qual que combina a definição clássica de uma causa direta para determinada enfermidade com os conceitos mais recentes de probabilidade, predição e prognóstico. (Laures-Vale e Martinez, 2001).

Os fatores de risco podem ser divididos em modificáveis e não modificáveis. Os primeiros incluem a idade, o sexo e a

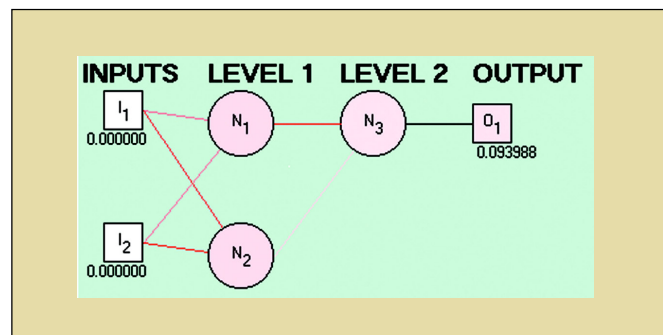


FIG. 1 - Representação de uma típica rede neural

história familiar positiva para DAC. Entre os modificáveis estão a dislipidemia, o diabetes, o tabagismo, o sedentarismo, a hipertensão arterial, a obesidade e o estresse. A prevenção tem sido baseada no conhecimento dos fatores de risco modificáveis (Frova *et al.*, 1997; Al-Nuaim, 1997).

O risco cardíaco individual pode ser medido e expresso como risco relativo (relativo a alguma referencia ou padrão ideal) ou como risco absoluto (risco que uma pessoa possui de desenvolver determinado evento clínico em um período). O diagrama da "Second Joint Task Force of European and Societies on Coronary Prevention" (1998) tem uma avaliação abrangente, sendo distribuída em cinco níveis de risco.

Assim, o objetivo deste trabalho foi demonstrar a possibilidade de utilização da análise de redes neurais em substituição à forma tradicional de avaliação do risco coronariano e demonstrar a potencialidade dessas redes na área médica, permitindo a utilização de múltiplos fatores de entrada e um inter-relacionamento entre múltiplos dados, sem a necessidade de seguir um modelo preestabelecido.

MATERIAL E MÉTODOS

Participaram deste estudo 33 indivíduos, todos funcionários do Hospital Universitário (HU), da Universidade Federal de Santa Catarina, durante o mês maio de 2001. Estes trabalhadores foram submetidos a exame antropométrico, aferição da pressão arterial e exame clínico. Na mesma ocasião foi realizada uma coleta capilar para verificação dos níveis de lipídeos, realizada pelo aparelho Cholestech L.D.X Analyser, que combina metodologia enzimática e tecnologia de fase sólida para separar colesterol total, HDL-colesterol e triglicerídeos (TG). Os valores de LDL-colesterol (LDL) foram calculados utilizando a fórmula de Friedwald.

Considerou-se também a história do uso do tabaco, sendo fumantes aqueles trabalhadores que, no presente, fumavam qualquer quantidade de tabaco todos os dias. Para o rastreamento de *Diabetes mellitus* utilizou-se apenas o inquérito clínico, ou seja, é diabético ou não.

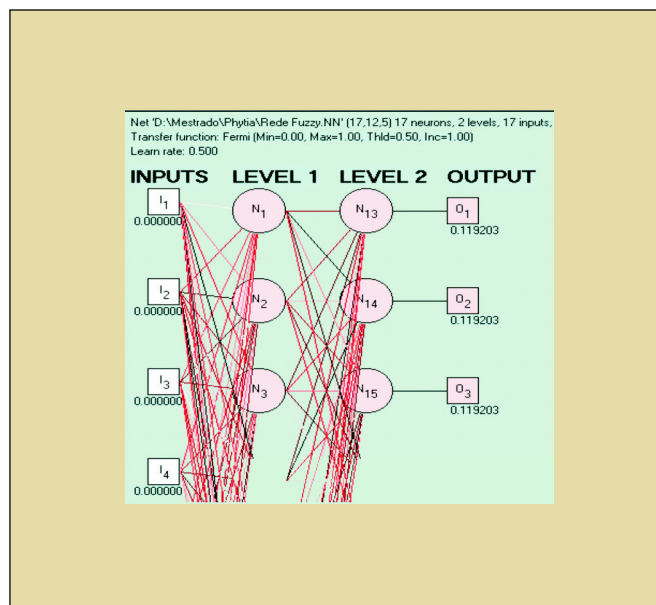


FIG. 2 - Modelo da rede neural de retropropagação (*back-propagation*), onde, I_1 , I_2 , I_3 ... representam os valores de entrada nível 1: idade, sexo, colesterol total (CT), HDL-colesterol (HDL), LDL-colesterol (LDL), triglicerídeos (TG), relação CT/HDL, índice de massa corporal (IMC), índice cintura quadril (ICQ), FU (fumante), diabetes mellitus (DM), hipertensão arterial sistêmica (HAS), risco DAC (S_1 , S_2 , S_3 , S_4 , S_5); N_1 , N_2 , N_3 ... representam os neurônios intermediários (camada oculta), N_{13} , N_{14} , N_{15} ... representa o nível 2, neurônio intermediário e O_1 , O_2 , O_3 , O_4 , O_5 representam os valores de saída.

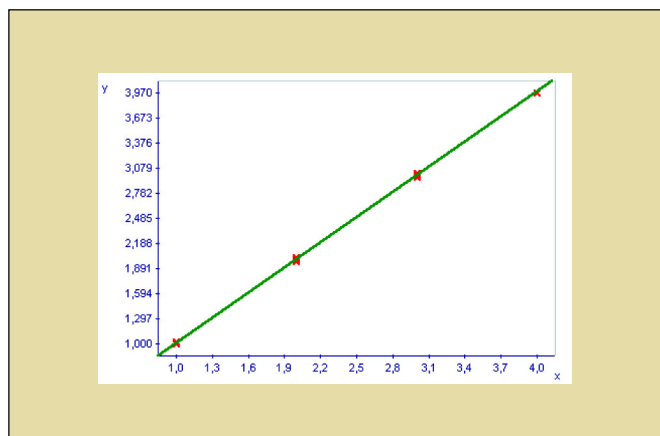


FIG. 3 - Regressão linear comparativo RDAC (Risco para Doença Arterial Coronariana) e análise da rede, onde o eixo x = risco DAC, avaliado pela forma clássica e o eixo y = resultado do treinamento da rede.

O índice de massa corporal (IMC) foi obtido pela divisão da massa corporal, em quilogramas, pelo quadrado da estatura, em metros ($IMC = \text{massa (kg)} / \text{estatura}^2$). Foi considerado como tendo sobrepeso/obesidade, tanto em homens quanto em mulheres, aqueles com o IMC superior a 30 kg/m^2 . O diagnóstico da topografia da gordura (gordura visceral) foi feito pela medida do perímetro da cintura e do quadril e, conseqüentemente, da divisão de um pelo outro (razão índice cintura/quadril). A medição da cintura foi feita na região mais estreita do abdômen e os pontos de corte considerados 80cm e 94cm, respectivamente para mulheres e homens. A medição do quadril foi feita na região trocântica, sendo que estes dados foram utilizados para calcular o ICQ (Índice Cintura/Quadril).

Os valores de referência utilizados para definição de hipertensão (H) foram os do *Joint National Committee do National Heart Institute* 140/90 mmHg. As medidas foram realizadas no braço direito, estando o indivíduo sentado. A pressão arterial foi medida por meio de um esfigmomanômetro de coluna de mercúrio, considerando a primeira bulha de Korotkow para sistólica e a última para diastólica.

Todos os participantes tiveram o devido esclarecimento sobre a presente pesquisa e assinaram o termo de consentimento para que os dados pudessem ser publicados.

O conjunto de dados foi inserido à rede neural, sendo composto de 17 variáveis de entrada e 5 de saídas. As variáveis de entrada foram representadas pelos seguintes parâmetros: idade, sexo, colesterol total (CT), HDL-colesterol (HDL), LDL-colesterol (LDL), triglicérides (TG), relação CT/HDL, índice de massa corporal (IMC), índice cintura quadril (ICQ), FU (fumante), *Diabetes mellitus* (DM), hipertensão arterial sistêmica (HAS) e os 5 graus de risco de DAC (S1=risco DAC1 (abaixo de 5%); S2=risco DAC 2 (entre 05 e 10%); S3=risco DAC 3 (entre 10 e 20%); S4=risco DAC 4 (entre 20 e 40%) e S5=risco DAC 5 (acima de 40%).

As 5 variáveis de saídas representaram os 5 níveis de risco coronariano (RN1, RN2, RN3, RN4, RN5) que foram criadas em substituição ao diagrama da "Second Joint Task Force of European and Societies on Coronary Prevention" (1998), os quais foram submetidos à análise pela Lógica Fuzzy que estabeleceu um valor real do percentual de avaliação de RDAC (Risco de Doença Arterial Coronariana).

Para análise estatística dos dados foram utilizados a regressão linear entre o valor apresentado no conjunto de dados e o resultado apresentado pela rede após o treinamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso de diagrama da "Second Joint Task Force of European and Societies on Coronary Prevention" (1998) como

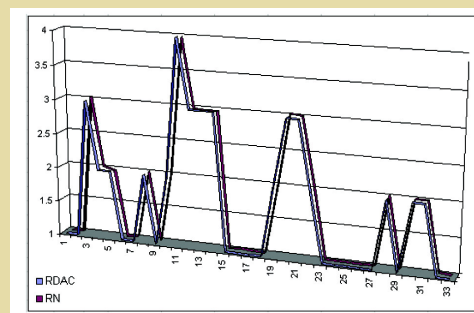


FIG. 4 - Comparativo RDAC (risco para Doença Arterial Coronariana) e análise da rede neural, onde o traço azul representa o RDAC avaliado de forma tradicional e o traço preto representa o resultado da análise pela rede neural

ferramenta de auxílio na estratificação do risco de eventos clínicos coronarianos, calcula o risco absoluto de eventos em 10 anos. Para auxiliar na estimativa de risco coronariano pode-se utilizar diagramas ou mesmo *softwares*.

Neste estudo foram avaliados os diferentes fatores de risco para DAC, utilizando um *software* modelador de redes neurais e Lógica Fuzzy que fez a correlação entre os fatores de risco coronarianos automaticamente, que pelo modelo original usava 5 tabelas diferentes. Para tal, o conjunto das 17 variáveis de entrada foram apresentado à rede para o processo de aprendizagem. (informação já fornecida anteriormente).

Uma rede neural extrai seu poder computacional pela sua estrutura maciça e paralelamente distribuída e de sua habilidade de aprender, portanto, de generalizar. A *generalização* se refere ao fato de que as redes neurais produzem saídas adequadas para entradas, que não estavam presentes durante o treinamento (aprendizagem). Essas duas capacidades de processamento de informação permitem que as redes neurais resolvam problemas complexos (de grande escala) que são muitas vezes considerados intratáveis.

A Fig. 2 representa o modelo de rede neural utilizado neste trabalho. Os neurônios de saída (nós computacionais) constituíram a camada de saída da rede. Os neurônios restantes (nós computacionais) constituíram as camadas ocultas da rede. A primeira camada oculta foi alimentada pela camada de entrada, constituída de unidades sensoriais (nós de fonte); as saídas resultantes da primeira camada oculta por sua vez aplicadas à próxima camada oculta, e assim por diante para o resto da rede. Esta figura apresenta, pois, o modelo da rede neural com 17 neurônios em dois níveis, sendo 17 variáveis de entradas, 12 neurônios na camada intermediária (*oculta*) e 1 neurônio na camada de saída.

A Fig. 3 apresenta a regressão linear entre o valor apresentado no conjunto de dados para treinamento como saída e o resultado apresentado pela rede neural após o treinamento.

A Fig. 4 mostra um comparativo entre o resultado de avaliação clássica, fornecido como saída para a rede neural, com o resultado obtido pela rede após o treinamento. Nota-se, pois que o resultado do aprendizado pela rede neural, ficou muito próximo da avaliação tradicional.

A utilização da Lógica Fuzzy possibilitou uma definição maior do grau da avaliação de risco de doença coronariana, para um período de 10 anos, com faixa de percentuais para o grau do risco "Second Joint Task Force of European and Other Societies on Coronary Prevention" (1998). O estudo teve por base o mesmo conjunto de dados utilizados para o treinamento da rede.

A variável risco par doença arterial coronariana (RDAC), cujos valores estão entre 1 e 5, foi substituída por 5 variáveis. Os valores atribuídos às novas variáveis passaram a ser 0.1

TABELA I

Conjunto de dados de treinamento da rede neural

IDA	SEX	CT	HDL	LDL	TG	CT/HDL	IMC	ICQ	FU	DM	HAS	S1	S2	S3	S4	S5
44	1	207	56	141	49	3.7	28.50	0.75	0.1	1	1	0.9	0.1	0.1	0.1	0.1
43	1	232	66	155	57	3.5	25.68	0.78	0.1	1	1	0.1	0.9	0.1	0.1	0.1
55	1	262	41	176	225	6.4	24.54	0.95	0.1	1	2	0.1	0.1	0.9	0.1	0.1

Onde, IDA=idade; SEX=sexo; CT=colesterol total; TG=triglicerídeos; IMC=índice de massa corporal; ICQ=índice cintura quadril; FU=tabagismo; DM=diabetes mellitus; HAS=hipertensão arterial sistêmica; S1=risco DAC1 (abaixo de 5%); S2=risco DAC 2 (entre 05 e 10%); S3=risco DAC 3 (entre 10 e 20%); S4=risco DAC 4 (entre 20 e 40%) e S5=risco DAC 5 (acima de 40%)

TABELA III

Valores calculados pela rede multiplicados pelo grau do RDC

RN1 x 5	RN2 x 10	RN3 x 20	RN4 x 40	RN5 x 70
4.4995	1.0010	*	*	*
*	9.0000	2.0260	*	7.0490
*	*	17.9880	*	*

Onde, RN1, RN2, RN3, RN4, RN5=valores de RDAC (risco arterial coronariano) inferidos pela rede neural após a multiplicação pelo percentual de risco.

ou 0.9, de acordo com o Risco para DAC. Para uma grau de risco 1 a variável S1, recebeu o valor 0.9 e as demais 0.1 e assim sucessivamente.

A Tab. I mostra o conjunto de dados apresentados para o treinamento da rede neural.

A topologia da rede utilizada para o treinamento foi exposta a um conjunto de treinamento da rede de 1000 vezes. A Tab. II apresenta os valores das saídas calculados após o treinamento da rede neural (RN1, RN2, RN3, RN4, RN5).

Na determinação do valor de cálculo da Lógica Fuzzy, foram desconsiderados valores menores que 0.1, que foram valores atribuídos como saída normal para a rede e que não influenciaram no cálculo do resultado para DAC. Os demais valores obtidos pela rede neural foram multiplicados pelo maior percentual de risco, com exceção dos valores do grau de risco 5, onde foi atribuído um valor de 70, de acordo com o crescimento proporcional dos valores das faixas anteriores, conforme mostra a Tab. III.

O cálculo do risco final para DAC foi obtido pela seguinte fórmula, ignorando os valores menores que 0.1.

$$RISCO = \frac{RN1 * 5 - RN2 * 10}{RN1 - RN2}$$

A Tab. IV mostra um valor real do grau de avaliação de risco de doença coronariana, pela utilização da técnica dos conjuntos difusos (Lógica Fuzzy), sobre o resultado do treinamento da rede neural.

Este estudo demonstrou a potencialidade das redes neurais, também na área médica, ficando comprovada a importância da associação do emprego da Lógica Difusa com as Redes neurais, permitindo formar sistemas híbridos que podem muitas vezes capturar o melhor de ambas as tecnologias.

Na forma tradicional de avaliação, quando um paciente encontra-se numa classe de risco alto é impossível determinar a pertinência do mesmo em outras classes, ou seja, o indivíduo que se encontra no limites superiores de uma classe normal, nunca saberá a probabilidade que ele apresenta de passar para um grau mais alto. Em outras palavras, o indivíduo que se encontra no limite inferior ou superior de uma classe da forma tradicional é tratado da mesma forma. O sistema proposto e desenvolvido considera esse fato como uma questão muito relevante e chega a um novo índice que consegue medir esse fator (Perozin, 2002).

Por outro lado, os índices de risco para DAC obtidos neste trabalho foram coerentes com o diagrama da "Second Joint Task Force of European and Other Societies on

TABELA II

Variáveis de RDAC calculadas pela rede neural

S1	S2	S3	S4	S5	RN1	RN2	RN3	RN4	RN5
0.9	0.1	0.1	0.1	0.1	0.89990	0.10010	0.10000	0.10000	0.10000
0.1	0.9	0.1	0.1	0.1	0.10000	0.90000	0.10130	0.10000	0.10070
0.1	0.1	0.9	0.1	0.1	0.10000	0.10000	0.89940	0.10000	0.10000

Onde, S1=risco DAC1 (abaixo de 5%); S2=risco DAC 2 (entre 05 e 10%); S3=risco DAC 3 (entre 10 e 20%); S4=risco DAC 4 (entre 20 e 40%); S5=risco DAC 5 (acima de 40%) e RN1, RN2, RN3, RN4, RN5=valores de risco de DAC inferidos pela rede neural após análise do conjunto de dados.

TABELA IV

Valores calculados pela rede e o percentual de RDC

RN1	RN2	RN3	RN4	RN5	RISCO	RDC
0.9	0.1	*	*	*	5.5%	1
*	0.9	0.101	*	0.101	16.4%	2
*	*	0.899	*	*	20.0%	3

Coronary Prevention" (1998), tendo a vantagem de apresentar um valor individualizado para cada RDAC.

CONCLUSÃO

O sistema proposto e desenvolvido neste trabalho com a utilização de redes neurais com a associação da Lógica Fuzzy na área médica, mostrou sua potencialidade em relação à forma tradicional de avaliação para DAC, com a inclusão de novos fatores de riscos, de forma a apresentar um percentual mais específico a cada indivíduo.

REFERÊNCIAS

- Al-Nuaim, A. R.; High prevalence of metabolic risk factors for cardiovascular diseases among Saudi population, aged 30-64 years. *Inst. J. Cardiol*, 62: 227-235, 1997.
- Anderson, J. A.; Introduction to neural networks, Cambridge, MA : MIT Press, 1995.
- Barreto, J. M.; Inteligência artificial: No Limiar do Século XXI, Florianópolis : PPP Edições, 1997.
- Eberhardt, R.; Simpson, P.; Dobbins, R.; Computacional intelligence PC Tools. Orlando FL, Academic Press, Inc. 1996.
- Frova, L.; Capacaccia, R.; Gimapaoli, S.; Verdecchia, A. estimating population based incidence and prevalence of major coronary events. *J. Clin. Epidemiol*; 5 : 507-515. 1997
- Haykin, S. Redes Neurais princípio e prática; 2 ed : Porto Alegre : Bookman : p.1-181. 2001.
- Kosko, B. Neural Networks and Fuzzy Systems, Englewood Cliffs, NJ : Prentice Hall, 1992.
- Laures-Vale, A. A.; Martinez, T. L. R.; Prevenção: importância e estratificação de risco: Atheros, 12 (1) : 7-12, 2001.
- Porto, C. C. Doenças do Coração Prevenção e Tratamento, Rio de Janeiro, R, Ed. Guanabara Koogan, 1998.
- Pearl, J. Probabilist reasoning in intelligent Systems, San Mateo, CA: Morgan Kaufmann. (Revised 2nd printing, 1991) : 1988.
- Perozin, A. R. Inteligência Computacional Avaliando Risco Coronariano, Dissertação Mestrado, UFSC, 2002. p.162
- Roger, L. V.; Killian, J.; Henkel, M.; et al. Coronary disease surveillance in Olmsted County objectives and methodology. *J. Clin. Epidemiol*. 55: 593-6, 2002
- Russel, S. J.; Norvig, P. Artificial intelligence: A modern approach, Upper Saddle River, N. J.: Prentice-Hall, 1995.
- Sage, A. P. Concise Encyclopedia of information processing in Systems and Organizations, Pergamon : New York, 1990.
- Second Joint Task Force of European and Other Societies on Coronary Prevention. *European Heart Journal, Atherosclerosis and Journal of Hypertension*, 1998.
- Zanchetti, A. The hypertensive patients with multiple risk factors. Is treatment really so difficult? *Am. J. Hypertension*, 1997; 10: 223S-229S.

Endereço para correspondência

Aldir Roberto Perozin, SASC-NIPEAD-HU, UFSC, Campus Universitário, Trindade, Florianópolis, SC - Brasil. Cep 88040-900 - E-mail: pero@ieg.com.br