

RIBAC

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

SUMÁRIO

Prevalência de hemoglobinopatias e talassemias em crianças de 6 meses a 7 anos de idade no laboratório escola do departamento de biomedicina (CBB) - UCG*	3
<i>Paulo Roberto de Melo Reis, Karlla Greick Batista Dias Penna, Luiz Murilo Martins de Araújo, Mauro Meira de Mesquita, Frank de Souza Castro & Fernando Amorim Balestra</i>	
Prevalence of hemoglobinopathies and thalassemias in children from 6 months to 7 years old at the school laboratory from the department of biomedicine (cbb) - ucg*	
Influência do volume de sangue no exame de hemocultura utilizando sistema automatizado em Hospital de Ensino*	7
<i>Nara L. F. Dal Forno, Alvantino S. de Campos, Leandro C. da Rosa, Leoni Pentiado Godoy, Aline L. Noal, Rosmari Hörner</i>	
Influence of the volume of blood in the hemocultura examination using system automatized in Hospital of Education*	
Análise crítica da pseudosepticemia e falso negativo: valor diagnóstico das hemoculturas	11
<i>Alvaro Largura, Lillian Ferri Passadore, Alice Cristina Rodrigues, Maria da Glória Sousa, Renato Sebastião Saladino, Paulo H. Carbone, Alisson Marassi, Carlos Adalberto C. Sannazzaro, Mario H. Hirata</i>	
Critical analysis of the pseudosepticemia and false negative: diagnostic value of the hemoculturas	
Avaliação da Resistência de drogas antituberculosas no Estado do Ceará no período de 2000-2002*	15
<i>Ana Kélvia Araújo, Everardo Albuquerque Menezes, Cynthia Duarte Santos, Francisco Afrânio Cunha e Creusa Lima Campelo</i>	
Evaluation of the resistance antituberculosis drug in the State of Ceará in the period of 2000-2002*	
Aplicação do D-dímero na investigação de distúrbios tromboembólico	19
<i>Rafael Noal Moresco e Lúcia Mariano da Rocha Silla</i>	
D-dimer testing in the investigation of thromboembolic disorders	
Valor Diagnóstico da Determinação da Atividade da Adenosina Deaminase no Derram Pleural Tuberculoso em Indivíduos Infectados e não Infectados pelo HIV	23
<i>Andreza Fabro de Bem, Camille Salvany Caputi, Fabiane Bandeira Meireles, Artur Pizolatto Vargas, Mariéli da Silva Carlotto & Izabel Cristina Huber</i>	
Diagnostic Value of Adenosine Deaminase Determination in Tuberculous Pleural Effusion in HIV-and HIV-Patients	
Micoses observadas em pacientes atendidos no Hospital Universitário, Florianópolis, Santa Catarina*	27
<i>Moema Pfeilsticker Pereira Coelho, Beatriz Garcia Mendes, Helén Zocche Soprana, Lígia Fonseca Viana Santos, Berenice Pagani Nappi, Jairo Ivo dos Santos</i>	
Mycoses observed in patients assisted at the University Hospital, Florianópolis, Santa Catarina	
Perfil agregante em cardíacos em uso do ácido acetil salicílico*	31
<i>Patrícia Sigilló Mazzoni Bernardi, Haroldo Wilson Moreira</i>	
Aggregant profile in cardiac patients using acetyl-salicylic acid.	
Parasitas intestinais. prevalência e correlação com a idade e com os sintomas apresentados de uma população infantil de Presidente Prudente-SP	35
<i>Nair Toshiko Tashima & Maria Jacira Silva Simões</i>	
Prevalence of enteroparasites in children from Presidente Prudente-SP as correlated to age and clinical symptoms.	
Valores de referência de bioindicadores: avaliação estatística no caso do ácido hipúrico urinário*	41
<i>José Antônio Leite, Augusto Ramalho de Moraes, Mário Javier Ferrua Vivanco & Maria Elisa Pereira Bastos de Siqueira</i>	
Reference values of bioindicators: statistical evaluation in the case of the urinary hippuric acid	
Culturas de pontas de cateteres venosos centrais e perfil de resistência aos antimicrobianos de uso clínico	45
<i>Regina Mariuza Borsato Quesada, Floristher Elaine Carrara, Claudia Ross, Leandro Augusto Calixto, Lígia Maira dos Santos Rogeri & Jacinta Sanches Pelayo</i>	
Central venous catheter tip cultures and resistance pattern of antimicrobial of clinical use	
Importância do rastreamento pré-concepcional e pré-natal da infecção por T. gondii Prevalência sorológica em um hospital público.*	49
<i>Adriana Cristina Zancan do Carmo, Salimara Rampeloto Bottom, Juliana Fleck & Sandra Trevisan Beck</i>	
The importance of screening preconception and antenatal T. gondii infection Serological prevalence in a public hospital	
Contaminação do solo por helmintos de importância médica na praia do sul (milionários), Ilhéus - BA*	53
<i>Ana Pilar Sousa González y Cáceres Flávia de Assunção Gonçalves, Irene Maurício Cazorla & Sílvia Maria Santos Carvalho</i>	
Contamination of soil by helminths of medical importance in the south beach (Milionários) Ilhéus - BA	
O Espermorom na morfologia espermática estrita: relato de um caso	57
<i>Orildo dos Santos Pereira, João Baptista M. Janini, Humberto Marques Tibúrcio e Afrânio Caiafa de Mesquita Filho.</i>	
The Espermorom in the strict espermática morphology: story of a case	

1

VOLUME 37

2005

Prevalência de hemoglobinopatias e talassemias em crianças de 6 meses a 7 anos de idade no laboratório escola do departamento de biomedicina (CBB)-UCG*

Prevalence of hemoglobinopathies and thalassemias in children from 6 months to 7 years old at the school laboratory from the department of biomedicine (cbb) – ucg*

Paulo Roberto de Melo Reis¹; Karlla Greick Batista Dias Penna²; Luiz Murilo Martins de Araújo³; Mauro Meira de Mesquita⁴; Frank de Souza Castro⁵ & Fernando Amorim Balestra⁶

RESUMO – Foram estudadas 197 amostras de sangue de crianças com idade variando entre 6 meses a 7 anos, de ambos os sexos. O objetivo do trabalho foi avaliar a prevalência de hemoglobinopatias e talassemias em crianças na faixa etária de 6 meses a 7 anos de idade. As amostras foram obtidas por punção venosa e submetidas à análise laboratorial, empregando os seguintes procedimentos: Eritrograma, estudo citológico, teste de resistência globular, teste de falcização, eletroforese de hemoglobina em pH alcalino, ácido e HPLC. Os resultados obtidos mostraram que 36,5% das crianças estudadas portavam alterações da hemoglobina. Estes resultados enfatizam a necessidade de programas com maior abrangência na população para estudo da epidemiologia das hemoglobinopatias no estado de Goiás.

PALAVRAS-CHAVE – Hemoglobinopatias, talassemias, hemoglobinas anormais.

SUMMARY – We studied 197 samples of children's blood with age varying among 6 months to 7 years, of both gender. The objective of the work was to evaluate the hemoglobinopathies prevalence and thalassemias in children in the age group of 6 months to 7 years. The samples were obtained by vein puncture and submitted to the analysis using the following procedures: Red blood cell count, cytological study, test of globular resistance, hemoglobin electrophoreses in alkaline and acid pH. The results showed that 36,5% of the children studied harbored hemoglobin alterations. These results emphasizes the need of programs with larger inclusion in the population to study the epidemiology of the hemoglobinopathies in the state of Goiás.

KEYWORDS – Hemoglobinopathies, thalassemias, abnormal hemoglobin.

INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias e as talassemias são distúrbios hereditários que ocorrem na hemoglobina humana devido a alterações gênicas dos cromossomos 11 e 16, responsáveis pela síntese das cadeias beta e alfa da globina, respectivamente^{6,7,9,14}.

É evidente o impacto das anemias hereditárias no crescimento e desenvolvimento da criança e do adolescente homocigotos. Eles desenvolvem no primeiro ano de vida os sinais da anemia, caracterizados por palidez, desânimo, falta de apetite e hipodesenvolvimento, manifestado por deficiência precoce no peso e estatura, atraso na maturação sexual e prejuízo no desempenho escolar^{2,3,4,6,7,9,15}.

A realização do diagnóstico laboratorial destas alterações hemoglobínicas o mais precocemente possível é de primordial importância, devido à alta mortalidade na infância. O tratamento adequado e o diagnóstico precoce reduzem, expressivamente, a morbidade e a mortalidade^{1,2,3,4,6,7,13}.

A população brasileira caracteriza-se pela miscigenação racial, com distribuição étnica diferente nas várias regiões geográficas do país¹⁶. Portanto, a diversidade de origens raciais e a miscigenação tornam a população brasileira única sob o ponto de vista antropológico e conseqüentemente,

os distúrbios das hemoglobinas apresentam diferenciada prevalência, variando de região para região dentro do Brasil^{4,6,7,16}.

O objetivo deste trabalho é avaliar a prevalência de hemoglobinopatias e talassemias em um grupo de crianças com idade entre 6 meses e 7 anos como contribuição inicial ao estudo de sua epidemiologia no estado de Goiás.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de março a novembro de 2002 foram estudadas 197 amostras de sangue de crianças com faixa etária entre 6 meses a 7 anos, de ambos os sexos, provenientes do Laboratório Escola do Departamento de Biomedicina da Universidade Católica de Goiás.

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Estudo e Pesquisa de Anemias Hereditárias – Prof. Dr. Paulo Cesar Naoum, do Departamento de Biomedicina da Universidade Católica de Goiás, de acordo as normas estatutárias da Vice-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa. A participação dos menores foi realizada obedecendo a princípios éticos, mediante informações e esclarecimentos dados aos pais, que por decisão própria e voluntária deram consentimento por escrito^{8,10}.

Recebido em 22/01/2004

Aprovado em 26/01/04

*Trabalho realizado no Laboratório de Estudo e Pesquisa de Anemia Hereditária – LEPAH - Prof. Dr. PAULO CESAR NAOUM do Departamento de Biomedicina (CBB) – Vice-Reitoria de Pós-graduação e Pesquisa (VPG) da Universidade Católica de Goiás (UCG).

¹Responsável pelo projeto e professor assistente - Hematologia laboratorial – CBB-UCG.²Professores Assistentes - Hematologia Laboratorial - CBB-UCG. ⁴Biomédico - Coordenador do Laboratório de Análises Clínicas - CBB-UCG. ⁵Professor - CBB-UCG - Comissão Científica SBAC-Go. ⁶Aluno do 8º período do Curso de Biomedicina - CBB-UCG.

As amostras de sangue foram obtidas por punção venosa, utilizando solução comercial de anticoagulante de EDTA (Etilenodiamino tetracético) a 10g/dl, 1 gota para cada 5 ml de sangue.

Foram empregados testes laboratoriais para a triagem e testes específicos para a confirmação dos resultados.

Os testes de triagem utilizados foram:

Eritrograma - realizado em aparelho automatizado Cobas Micro Roche®;

Análise morfológica eritrocitária - a morfologia dos eritrócitos foi estudada a fresco, através do esfregaço italiano⁶; Teste de resistência globular - foi realizado utilizando-se solução salina 0,36% (Figura 1)⁶;

Eletroforese de hemoglobina - foi realizado em pH alcalino em fitas de acetato de celulose e tampão TRIS-EDTaborato (TEB), pH 8,56 (Figs. 2 e 3).

Os testes confirmatórios utilizados foram:

Eletroforese quantitativa - foi realizada para a dosagem de hemoglobina H e A2, em acetato de celulose, por eluição da fita com as respectivas bandas^{6,7};

Eletroforese qualitativa - foi realizada em gel de Agar com tampão citrato pH=6,2, para diferenciar as hemoglobinas variantes^{6,7}.

Teste de falcização - utilizou-se o método do metabissulfito de sódio a 2%^{6,7}.

Pesquisa intra-eritrocitária - utilizou-se a pesquisa intra-eritrocitária para identificação de hemoglobina H e de corpos de Heinz⁶,

Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) - foi realizada utilizando o programa beta talassemia do equipamento Variant da Bio-Rad®.

Não foram utilizados solventes orgânicos (éter, toluol, clorofórmio, etc) para obtenção do hemolisado, sendo que todas as amostras submetidas a eletroforese foram preparadas com solução de saponina a 1%^{6,7,12}.

A detecção de portadores de talassemia alfa por eletroforese de hemoglobina, foi confirmada pela pesquisa intra-eritrocitária de hemoglobina H nos eritrócitos, que foram incubados em solução de Azul Cresil Brilhante a 1% por duas horas a 37°C^{5,6,11}.

No processo de eletroforese foi usada uma amostra conhecida e normal como controle da corrida.

RESULTADOS

A Tabela 1 mostra que a distribuição das hemoglobinas no grupo de crianças estudadas apresenta uma prevalência de 36,5% de hemoglobinas anormais. Dentre elas, foram encontrados diferentes genótipos, mostrando, desta forma, a diversidade genética dessas alterações. A mais freqüente das alterações foi a alfa talassemia detectada em 39 (19,8%) dos 197 pacientes, seguida de 11 (5,6%) casos de heterozigoto para anemia falciforme; 9 (4,6%) pacientes com beta talassemia; heterozigoto para hemoglobina C em um caso. É interessante ressaltar as associações encontradas: alfa-beta talassemia 7 casos (3,6%); alfa talassemia e heterozigoto para anemia falciforme 3 casos (1,5%); heterozigoto para anemia falciforme e beta talassemia 1 caso e talassemia alfa e heterozigota para Hb C 1 (0,5%) caso.

TABELA I

Distribuição das hemoglobinas normais e anormais em 197 crianças na faixa etária de 6 meses a 7 anos de idade no laboratório escola

Hemoglobinas encontradas	Pacientes	Porcentagem	Porcentagem dos afetados
Normal	125	63,5	0,00
Hb H - Talassemia alfa	39	19,8	19,8
Heterozigoto H b S	11	5,6	5,6
Talassemia beta menor	9	4,6	4,6
Heterozigoto H b C	1	0,5	0,5
Associação alfa/beta talassemia	7	3,6	3,6
Associação alfa talassemia/Hb S	3	1,5	1,5
Associação beta talassemia/Hb S	1	0,5	0,5
Associação alfa talassemia/Hb C	1	0,5	0,5
Total	197	100,0	36,5

A morfologia eritrocitária foi observada através de esfregaço italiano⁶. A maioria dos portadores de genótipo AH apresentou discreta microcitose. Já no paciente portador de associação traço falciforme e alfa talassemia evidenciou-se microcitose e hipocromia, confirmado pelo esfregaço corado. Os pacientes heterozigotos tanto para hemoglobina S quanto para hemoglobina C não apresentaram alterações morfológicas e as hematimetrias estavam dentro dos limites de normalidade para idade e sexo.

DISCUSSÃO

A heterogeneidade genética para as anemias hereditárias na população brasileira é devida ao processo de colonização que fomos submetidos, pois a diversidade das origens raciais e a miscigenação da população fazem da população brasileira única sob o ponto de vista antropológico e conseqüentemente os distúrbios das hemoglobinas apresentam diferenciada prevalência.

A alta prevalência de alfa talassemia é explicada pelo preparo do hemolisado com solução de saponina, que não desnatura a hemoglobina H, permitindo sua detecção com eficiência, mostrando, dessa forma, que a alfa talassemia é uma alteração hereditária muito comum e prevalente na população.

O achado de 36,5% de hemoglobinas anormais obtido neste trabalho aponta para a necessidade de um estudo populacional na região para esclarecimento da real prevalência dessa alteração genética. Faz-se necessário um estudo abrangente e em parceria com as autoridades de saúde pública para que se estabeleça o perfil das hemoglobinopatias na região. É muito importante para as autoridades de saúde pública a detecção dos portadores assintomáticos na população, pois estes representam a fonte de transmissão gênica, podendo originar indivíduos homozigotos.

Para o profissional de laboratório é necessário que fique atento para a detecção da Hemoglobina H. Ela é instável e se desnatura com facilidade. Desta forma, durante a corrida eletroforética, a hemoglobina H aparece nos minutos iniciais da corrida, desaparecendo em seguida.

Trabalhos de levantamento populacional devem ser estimulados, para que tenham como objetivo de esclarecimento a população e as autoridades de saúde pública quanto a prevalência das anemias hereditárias na população. A prevenção das anemias hereditárias se faz através da identificação e conscientização dos heterozigotos, o acompanhamento médico e o aconselhamento genético em caráter multidisciplinar.

REFERÊNCIAS

1. Castilho, E.M., Naoum, P.C., Graciano, R.A.S., Silva, R.A. - Prevalência de Talassemia alfa em pacientes com anemia e em pessoas sem anemia. Rev. Bras. Pat. Clín., 23 (5), 131-134, 1987.
2. Lorenzi, T.F., Manual de Hematologia. Propedêutica e Clínica. 2ª Ed. Medsi. São Paulo, SP. 1999.
3. Ministério da Saúde, Programa de Anemia Falciforme. Grupo de Trabalho para elaboração do Programa Nacional de Anemia Falciforme (Portaria MS No 951, de 10/05/1996).
4. Naoum, P.C. Hemoglobinopatias no Estado de São Paulo. Métodos de Estudos, Prevalência, Distribuição Geográfica, e Relações Históricas e Antropológicas. São José do Rio Preto - SP. Tese de Livre-Docência. Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". 1982.
5. Naoum, P.C.; Domingos C.R.B. Talassemias Alfa. Laes & Haes, XVIII (107): 70-98. 1997.
6. Naoum, P.C. Hemoglobinopatias e Talassemias. Sarvier Ed. Livros Médicos. São Paulo, SP. 1997.
7. Naoum, P.C. Eletroforese. Técnicas e Diagnósticos. 2a Ed. Livraria Santos Editora. São Paulo, SP. 1999.
8. Naoum, P.C.; Domingos, C.R.B.P.; Mazziero, A.; Castilho, E.M.; Gomes, C.T. "Você tem anemia Hereditária?" Resultados do programa de conscientização e detecção de hemoglobinas anormais em escolares de São José do Rio Preto, SP, Brasil. Boletim, 143: 20-29, 1987.
9. Neto, G.C.G.; Pitombeira, M.S. 2003. Aspectos moleculares da anemia falciforme. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, 39 (1):51-56.
10. Paiva e Silva, R.B.; Ramalho, A.S. Riscos e benefícios da triagem genética: o traço falciforme como modelo de estudo em uma população brasileira. Cad. Saúde Pública. abr./jun. 1997, vol.13, no.2 .285-294. 1997.
11. Papassotiropoulos, I.; J. Traeger-Synodinos; E. Kanavakis; M. Karagiorga; A. Stamoulakatou; C. Kattamis. Erythroid Marrow Activity and Hemoglobin H Levels in Hemoglobin H Disease. Journal of Pediatric Hematology/Oncology, 20(6), 539-544, 1998.
12. Ribeiro, V.S; Araújo, J.T. - Hemoglobina H: Identificação Laboratorial. Res. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo 47(4): 176-179, 1992.
13. Ruiz, M.. Hemoglobinopatias: um tema em constante discussão. Revista bras. Hematol.hemoter., 24(4):242-3, 2002
14. Silva, P.H.; Hashimoto. Y.. Interpretação Laboratorial do Eritrograma. Lovise. São Paulo, SP. 1999
15. Tolo, M.R.T.; Pazzianoto C.R.. Hemoglobinopatias em crianças com alterações eritrocitárias. Revista Bras. Pat. Clín., 26 (1):2-5. 1990.
16. Viana-Baracioli, L.M.S.; Bonini-Domingos, C.R.; Pagliusi, R.A; Noaum, P.C. - Prevenção de hemoglobinopatias, a partir do estudo em gestantes, Rev..bras.hematol.hemoter., 23(1):31-39, 2001

Endereço para correspondência
Prof. Paulo Roberto de Melo Reis
Universidade Católica de Goiás (LEPAH-LAS-CBB)
Av. Universitária 1069 – Setor Universitário – 74605-010 – Goiânia-GO
E-mail: melo.reis@brturbo.com



XXXII Congresso Brasileiro de Análises Clínicas V Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

22 a 26 de maio de 2005

Centro de Convenções de Goiânia
Goiânia - GO

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Influência do volume de sangue no exame de hemocultura utilizando sistema automatizado em Hospital de Ensino*

Influence of the volume of blood in the hemocultura examination using system automatized in Hospital of Education *

Nara L. F. Dal Forno, Alvantino S. de Campos, Leandro C. da Rosa, Leoni Pentiado Godoy, Aline L. Noal, Rosmari Hörner

RESUMO – A bacteriemia se tornou a principal infecção nosocomial na maioria dos centros e representa uma fonte formidável de morbidade e mortalidade. Em um breve estudo nós avaliamos o sistema automatizado BACTEC 9120 de cultura de sangue (Becton Dickinson Diagnostic Instruments, Sparks, Md.) e obtivemos 1,84 % de sinal falso positivo. O volume de sangue inoculado em 295 amostras (frascos BACTEC Plus Aerobic/F ou BACTEC Plus Anaerobic/F) foi analisado usando as ferramentas do CEP (Controle Estatístico de Processo) a fim de controlar a qualidade do processo. O resultado deste trabalho mostrou que 17 % das amostras não seguiam as especificações determinadas pelo fabricante, com respectivamente 41 (13,9%) e 10 (3,4%) dos frascos contendo baixo ou alto volume de sangue. Conclui-se que o processo pode ser considerado fora de controle e que de fato, o volume de sangue é a variável mais importante para a recuperação de microrganismos presentes no sangue.

PALAVRAS CHAVE – Bacteriemia, BACTEC série 9000, hemocultura.

SUMMARY – Bacteremia has become a major nosocomial infection in most centers and represents a formidable source of morbidity and mortality. In a previous study we evaluated the BACTEC 9120 automated blood culture system (Becton Dickinson Diagnostic Instruments, Sparks, Md.) and noted 1,84% of false-positive signals. The volume of blood drawn in 295 bottles (BACTEC Plus Aerobic/F or BACTEC Plus Anaerobic/F bottle) was analyzed using the tools of the SPC (Statistical Process Control) in order to control the quality of the process. The result of this work has shown 17% vials varied from those recommended by the manufacturer, with respectively 41 (13,9%) and 10 (3,4%) vials with low or high blood volume drawn. We conclude that the process could be considered out of control and, indeed, the volume of blood cultured is the most important variable in the recovering of microorganisms from the blood.

KEYWORDS – Bacteremia, BACTEC 9000 series, blood culture.

INTRODUÇÃO

O exame de hemocultura visa a detecção de microrganismos viáveis na corrente sanguínea. A presença de microrganismos viáveis no sangue do paciente pode levar a um considerável aumento da morbidade e da mortalidade. Devemos, também, lembrar que a invasão da corrente sanguínea representa uma das mais importantes complicações do processo infeccioso, o que torna a hemocultura um exame de significativo valor preditivo de infecção. A maioria dos episódios sépticos é de origem hospitalar e, às vezes, devido à microrganismos que apresentam grande resistência aos antimicrobianos, com uma mortalidade bem superior aos episódios que ocorrem na comunidade^{1,2}.

A introdução dos sistemas automatizados para a detecção das bacteremias e fungemias tem proporcionado uma maior rapidez no diagnóstico e tratamento dos pacientes. Os principais sistemas de hemocultura utilizados hoje são os de monitorização contínua que incluem o Bact/Alert (Organon Teknika, Scarborough, Ontário, Canada)³, o BACTEC geração 9000, que inclui o BACTEC 9050, 9120 e o 92404, o DIFCO ESP, o bioMérieux Vital, o O.A.S.I.S. e o MicroScan Blood Culture System⁵. Os métodos utilizados para a detecção do crescimento de microrganismos variam

entre os diferentes sistemas, porém em todos eles, a detecção do crescimento bacteriano é não invasiva diminuindo a chance dos resultados falso-positivos e a monitorização é contínua, reduzindo o tempo de detecção do crescimento de microrganismos. Ainda, eles permitem o acondicionamento de até 10 mL de sangue por frasco; é recomendado que o volume para coleta em cada punção venosa seja de 10 a 30 mL, distribuídos pelo número de frascos conforme sua capacidade, e respeitando a proporção de 1mL de sangue para cada 10 ou no mínimo 5 mL de caldo (1:10,1:5)^{5,6}. O volume de sangue é uma das variáveis mais críticas para a positividade do exame. Quanto maior o volume coletado maior será a positividade do mesmo⁵. A porcentagem de cultivos positivos diminui significativamente quando são cultivados menos de 10 mL por frasco⁶.

O objetivo desse estudo foi o de avaliar a influência do volume de sangue na positividade das hemoculturas de pacientes adultos realizadas no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), empregando o sistema BACTEC 9120, por meio do emprego do Controle Estatístico do processo - CEP - que, de acordo com Juran e Gryna⁷, "consiste na aplicação de técnicas estatísticas para medir e analisar a variação nos processos". O uso de técnicas estatísticas pode ajudar no entendimento da variabilidade destes processos.

Recebido em 07/04/2004

Aprovado em 26/10/2004

*Trabalho desenvolvido no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Santa Maria - RS (LAC - HUSM) com a orientação do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Produção

MATERIAIS E MÉTODOS

Durante o período compreendido entre 13 de outubro e 26 de novembro de 2003, foram inspecionados 295 frascos, uso adulto, aeróbios ou anaeróbios (Plus Aeróbio/F SCD – 10 mL ou Plus Anaeróbio/F SCD – 10 mL) componentes do sistema BACTEC 9120, do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Santa Maria-RS (LAC/HUSM), na busca de amostras não-conformes, cujo volume de sangue cultivado estivesse acima ou abaixo de especificações. O produto inspecionado, porém, foi apenas classificado em “conforme” ou “não-conforme”, caso estivesse de acordo ou não com as especificações fornecidas pelo fabricante.

A partir destes dados foram desenvolvidos planilhas e gráficos de controle para atributos no Microsoft Excel. A escolha pelo gráfico de controle para atributos, p , deveu-se ao fato de que este permite que se monitore a proporção de itens não-conformes em amostras de tamanho variável. Os limites superiores (LSC) e inferior de controle (LIC) foram calculados para cada amostra, n , de modo que se pudesse avaliar a variabilidade do processo como proposto por Juran e Gryna (1992, p.219)⁷, já que os subgrupos individuais variaram em relação à média em mais de 25%.

Os passos seguidos para a construção dos gráficos de controle estão de acordo com o descrito por Vieira (1999)⁸. A linha central ou unidade não-conforme média (LC), foi calculada dividindo-se o somatório de amostras não-conformes (Sd) pelo total de frascos inspecionados (Sn).

Todos resultados obtidos foram registrados e tratados a partir de técnicas e ferramentas de CEP, conforme tabela 1 e figura 1, referente às unidades não-conformes.

Os valores anotados no gráfico formam uma distribuição que fornece uma idéia geral do processo; a curva que une os pontos do gráfico permite visualização do processo no momento atual, no passado recente e sua tendência. Por sua vez, a linha média dá uma noção do nível de qualidade do processo, já que tanto percentuais de peças defeituosas quanto número de defeitos permitem avaliar este nível; os limites de controle mostram, de um lado, o valor mínimo da qualidade – que se espera seja zero -, e, de outro, até onde a variação deste valor é observada. Além disso, a faixa ao redor da média mostra se o processo é estável ou há algum fator que, ao interferir sobre o processo, o deixa fora (Paladini, 1990, p.153)⁹.

Na figura 1 tem-se a representação do gráfico de controle para atributos p para o volume de amostra coletado, componente do Sistema BACTEC 9120 do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Santa Maria.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As infecções hospitalares da corrente sangüínea vêm apresentando um aumento na incidência em diversas regiões do mundo, principalmente em grandes hospitais e nos universitários⁹. O HUSM funciona como centro de referência recebendo um considerável número de pacientes transferidos com doenças graves, necessitando muitas vezes de procedimentos invasivos ou permanecendo em unidades de terapia intensiva, tornando-se vulneráveis à disseminação de microrganismos no sangue.

O sistema de cultura de sangue da geração BACTEC 9000

tem mostrado ser um dos mais sensíveis sistemas para a detecção de uma grande variedade de microrganismos no sangue¹⁰. A emissão de sinais falso-positivos por esses aparelhos representa um dos principais problemas para o laboratório de microbiologia, pois perde-se tempo e material no processamento de uma hemocultura que era negativa. Esse tipo de problema ocorre na geração BACTEC 9000 principalmente quando ocorrem oscilações na rede elétrica. Da série BACTEC os modelos BACTEC 9240 e BACTEC 9120 são essencialmente idênticos em seu “design”, diferindo unicamente na capacidade dos frascos (240 e 120 respectivamente).

Um adequado volume de sangue aumenta a recuperação microbiana para ambos pacientes: adultos e pediátricos^{1,11,12,13}. Na verdade, o volume de sangue cultivado é a mais importante variável na otimização para a recuperação microbiana para pacientes adultos. Isso porque o número de microrganismos presentes no sangue em adultos é pequeno, normalmente menos do que 10 UFC/mL e, freqüente, menos que 1 UFC/mL. Para adultos, cada mililitro de sangue cultivado aumenta a recuperação bacteriana acima de 3%. Para maximizar a recuperação bacteriana, 20 ou 30 mL de sangue deverão ser cultivados por punção venosa. Entretanto o número de microrganismos presentes no sangue de crianças é maior, tipicamente maior que 100 UFC/mL, e freqüente maior que 1.000 UFC/mL¹. Porém não devemos rejeitar as culturas com volume de sangue inadequado, isto é inferior, mas monitorar e imediatamente coletar outro com volume adequado. Assim, é menos crítico monitorar o volume de sangue para crianças do que para adultos.

O número de unidades não conformes com volume inferior a 3 mL ou superior a 10 mL foi respectivamente de 41 (13,9%) e 10 (3,4%). A diluição do sangue no caldo em proporções maiores do que 1:5 aumenta a recuperação microbiana provavelmente por diluir os fatores de inibição natural do sangue a concentrações sub-inibitórias. Além do mais, a diluição do sangue ajuda a prevenir a coagulação. Alfa *et al.* apud Koneman (2001, p.162)⁶, “alertaram que serão produzidos resultados falso-positivos se forem semeados volumes excessivos de amostra nos frascos de hemocultivo”. O vácuo nos tubos pode extrair mais de 10 ml; portanto, se for habitual obter mais de 10 ml de sangue por coleta e dividir a amostra em mais de um frasco, o primeiro deles pode ficar sobrecarregado. Com base nesses resultados, Koneman (2001)⁶, aconselha que os diretores de laboratórios de microbiologia devem considerar a implantação de um controle de qualidade seguro do volume de sangue cultivado e tomar medidas corretivas apropriadas, sempre que se fizer necessário.

A porcentagem média de hemoculturas positivas no HUSM, nos últimos 6 meses, foi de 16%, estando de acordo com os dados na literatura atual^{4,14}. O percentual de falso-positivos (1,84) também não se afastou muito, sendo que encontramos citações entre 0,5 %³ a 1,9%^{4,10}.

Porém, a análise da Figura 1 permite afirmar que o processo está fora de controle estatístico pois há um ponto fora da área de normalidade e pontos muito próximos dos limites de controle, evidenciando um processo que não atende às especificações estabelecidas, resultando num serviço sem a padronização desejada. Para Juran e Gryna (1992, p. 192)⁷, “os pontos fora dos limites de controle indicam uma ou mais causas determináveis de variação”, as quais deve-

riam ser removidas por um tenaz programa de diagnóstico. Note-se que, 17% das unidades, em média, saem defeituosas do processo, um valor considerado alto. De acordo com Paladini (1990, p.155)¹⁵, "é normal obter, pelo menos 5% de peças defeituosas". Estas constatações revelam um processo que necessita de ações corretivas. Além do volume de sangue inoculado, que é a variável mais importante na detecção de microrganismos no sangue de indivíduos sépticos, outros dois importantes fatores que determinam a performance do teste, são: o número de hemoculturas coletadas por episódio séptico e o percentual de cultivos falso-positivos.

Concluiu-se que a metodologia empregada mostrou-se adequada para a análise da variabilidade do processo, com o uso de técnicas estatísticas, permitindo não só avaliar a situação atual do diagnóstico de septicemias no Laboratório de Microbiologia do HUSM, mas, também, a adoção de ações corretivas para as não-conformidades observadas. Apesar da aparente normalidade do processo, existem fatores, tais como a solicitação indevida de hemoculturas, sem que se cumpram determinados critérios mínimos; as oscilações de volume de sangue puncionado, normalmente abaixo do limite inferior de especificação determinado pelo fabricante, que acabam por prejudicar a detecção dos microrganismos envolvidos nas septicemias. Os laboratórios devem rotineiramente monitorar o volume de sangue cultivado como atividade de garantia da qualidade e promover educação continuada aos flebotomistas, orientando sobre a relação entre o volume cultivado e detecção de bacteremia ou fungemia. Além das conseqüências médicas e econômicas das hemoculturas falso-positivas - freqüentemente relacionadas a um volume além da especificação - que são enormes e resultam em hospitalização prolongada, estudos diagnósticos adicionais, remoção do catéter ou outros e administração inapropriada de agentes antimicrobianos, volumes de sangue aquém do indicado resultam em menor recuperação de microrganismos com conseqüente retrabalho. É importante, ainda, ressaltar o fato de que o percentual de positivos verdadeiros não aumentou significativamente neste setor, conforme o que é descrito na literatura, com a introdução do sistema automatizado de detecção bacteriana BACTEC, em relação à metodologia convencional, usada anteriormente. A explicação desse fato pode ficar em parte por conta da proporção imprópria de sangue/meio de cultura.

Tabela 1 – Dados do gráfico p

A	n	d	Pi	LC	LSC	LIC	A	n	d	Pi	LC	LSC	LIC
1	3	0	0,000	0,173	0,977	0	24	13	0	0,000	0,173	0,489	0
2	5	1	0,200	0,173	0,681	0	25	12	3	0,250	0,173	0,501	0
3	6	1	0,167	0,173	0,637	0	26	4	2	0,500	0,173	0,741	0
4	9	3	0,333	0,173	0,552	0	27	9	0	0,000	0,173	0,552	0
5	6	1	0,167	0,173	0,637	0	28	4	0	0,000	0,173	0,741	0
6	5	5	1,000	0,173	0,681	0	29	4	1	0,250	0,173	0,741	0
7	2	0	0,000	0,173	0,977	0	30	3	0	0,000	0,173	0,829	0
8	8	4	0,500	0,173	0,575	0	31	8	0	0,000	0,173	0,575	0
9	4	1	0,250	0,173	0,741	0	32	6	1	0,167	0,173	0,637	0
10	9	2	0,222	0,173	0,552	0	33	7	2	0,286	0,173	0,603	0
11	5	1	0,200	0,173	0,681	0	34	7	0	0,000	0,173	0,603	0
12	6	1	0,167	0,173	0,637	0	35	5	1	0,200	0,173	0,681	0
13	3	1	0,333	0,173	0,829	0	36	11	3	0,273	0,173	0,516	0
14	6	1	0,167	0,173	0,637	0	37	7	0	0,000	0,173	0,603	0
15	6	1	0,167	0,173	0,637	0	38	7	0	0,000	0,173	0,603	0
16	4	0	0,000	0,173	0,741	0	39	11	1	0,091	0,173	0,516	0
17	11	1	0,091	0,173	0,516	0	40	8	0	0,000	0,173	0,575	0
18	9	2	0,222	0,173	0,552	0	41	1	0	0,000	0,173	1,309	0
19	4	0	0,000	0,173	0,741	0	42	11	4	0,364	0,173	0,516	0
20	2	0	0,000	0,173	0,977	0	43	5	0	0,000	0,173	0,681	0
21	2	0	0,000	0,173	0,977	0	44	12	3	0,250	0,173	0,501	0
22	7	0	0,000	0,173	0,603	0	45	7	1	0,143	0,173	0,603	0
23	8	1	0,125	0,173	0,575	0	46	3	2	0,667	0,173	0,829	0
Totais							295	51	7,750	-	-	-	-
Médias							6,41	1,109	0,173	-	-	-	-

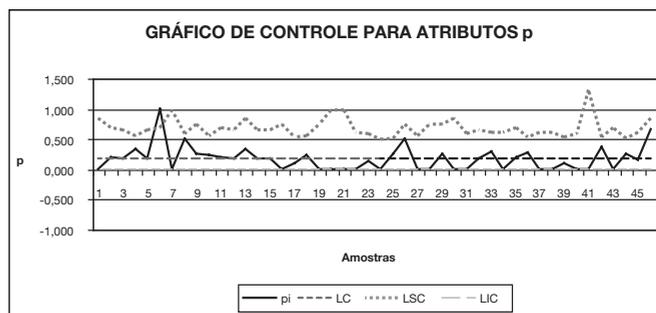


Figura 1- Gráfico de controle para tributos com dados da tabela 1.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Reimer, L. G.; Wilson, M. L.; Weinstein, M. P. Update on detection of bacteremia and Fungemia. Clin. Microbiol. Rev.10(3):444-465, 1997.
- ANVISA. Manual de Procedimentos básicos em Microbiologia Clínica para o controle de infecção hospitalar- Módulo 2 – Principais Síndromes Infeciosas. Ministério da Saúde, 2000.
- Smith, J. A., Bryce, E. A., Ngui-yen, J.H., Roberts, F. J. Comparison of BACTEC 9240 and BacT/Alert blood culture systems in an adult hospital. J. Clin. Microbiol. 33(7):1905-1908, 1995.
- Murray, P., Hollick, G. E., Jerris, R. C., Wilson, M. L. Multicenter comparison of BACTEC 9050 and BACTEC 9240 bood culture systems. J. Clin. Microbiol. 36(6):1601-1603, 1998.
- LEMC – UNIFESP. Sistemas automatizados de hemocultura: avaliação crítica. Disponível em: <http://www.unifesp.br>. Acesso em: 12/03/ 2004.
- Koneman, E., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C. Winn Jr., W. C. Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas colorido. 5a ed. Editora MED-SI, São Paulo, 2001.
- Juran, J. M., Gryna, F. M. Controle da qualidade handbook: métodos estatísticos clássicos aplicados à qualidade. São Paulo, Makron Books, 1992.
- Vieira, S. Estatística para a qualidade: como avaliar com precisão a qualidade em produtos e serviços. Rio de Janeiro: Campus, 1999.
- Moreira, M., Medeiros, E. A.S., Pignatari, A.C.C., Wey, S. B., Cardo, D. M. Efeito da infecção hospitalar da corrente sangüinea por Staphylococcus aureus resistentes à oxacilina sobre a letalidade e o tempo de hospitalização. Rev. Ass. Med. Brasil., 44(4): 263-268.
- Quian, Q., Tang, Y. W., Kolbert, C. P., et al. Direct identification of bacteria from positive blood cultures by amplification and sequencing of the 16 S rRNA gene: evaluation of BACTEC 9240 instrument true-positive and false-positive results. J. Clin. Microbiol. 39(10): 3578-3582, 2001.
- Arpi, M., Bentzon, M. W., Fredriksen, W. Importance of blood volume cultured in the detection of bacteremia. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 8:838-842, 1989.
- Li, J., Plorde, J. J., Carison, L. G., Effects of volume and periodicity on blood cultures. J. Clin. Microbiol. 32:2829-2831, 1994.
- Mermel, L. A., Maki, D. G., Detection of bacteremia in adults: consequences of culturing an inadequate volume of blood. Ann. Intern. Med. 119:270:272, 1993.
- Cockerill, F. et al. Clinical comparision of Bactec 9240 plus aerobic /F resin bottles and the isolator aerobic culture system for detection of bloodstream infections. J. Clin. Microbiol. 35(6):- 1469-1472, 1997.
- Paladini, E. P. Controle de qualidade: uma abordagem abrangente. São Paulo, Atlas, 1990.

Endereço para correspondência

Professora Rosmari Hörner

Análises Clínicas

Endereço: Conde de Porto Alegre – Centro – Santa Maria – RS

CEP: 97 015 260

E-mail: rosmari@smail.ufsm.br

Análise crítica da pseudosepticemia e falso negativo: valor diagnóstico das hemoculturas

Critical analysis of the pseudosepticemia and false negative: diagnostic value of the hemoculturas

Álvaro Largura^{1,3}, Lílian Ferri Passadore^{2,3}, Alice Cristina Rodrigues³, Maria da Glória Sousa³, Renato Sebastião Saladino³, Paulo H. Carbone³, Alisson Marassi¹, Carlos Adalberto C. Sannazzaro^{2,3}, Mario H. Hirata³

RESUMO – A septicemia é uma das causas de morbidade e mortalidade em crianças e adultos. A dificuldade diagnóstica está associada tanto à obtenção de amostras, assim como ao sistema utilizado na cultura, seja automatizada ou manual. O objetivo foi determinar a frequência de pseudosepticemia e falso negativo nos procedimentos automatizados e manuais em hemoculturas de dois centros diagnósticos: Hospital Universitário e um Centro de Análises e Pesquisas Clínicas. Utilizou-se Bactec 9240 e 9050 para hemocultura de 973 amostras, seguido de cultura em Agar sangue, Agar chocolate, MacConkey e Sabouraud. A identificação bacteriana foi realizada pelo sistema Vitek (automatizado) e manual utilizando provas bioquímicas em tubos. Estudo comparativo entre o sistema automatizado e o manual foi realizado utilizando 41 amostras de sangue. Os resultados mostram 12,33% de positividade no total em ambos os centros. Das 932 culturas realizadas 3,86% foram consideradas pseudo septicemias, e 8,47% septicemias. As pseudo septicemias foram representadas por *Staphylococcus coagulase negativa* e as septicemias por: *Staphylococcus aureus* (19,0%), *Escherichia coli* (13,9%), *Staphylococcus coagulase negativa* (11,4%), *Acinetobacter baumannii* (8,9%), *Enterococcus faecalis* (7,6%), *Klebsiella pneumoniae* (7,6%), *Enterobacter cloacae* (5,1%), *Streptococcus pneumoniae* (5,1%), outros (11,4%) e leveduras (10%). Nas 41 culturas realizadas pelos sistemas automatizado e manual detectaram-se 5 e 3 amostras positivas, respectivamente, com resultado falso negativo de 40% para o sistema manual. O percentual de hemoculturas positivas foi semelhante nos dois centros mostrando representatividade de amostra. A elevada incidência de pseudo septicemia enfatiza os cuidados pré-analíticos e a evidência de um alto percentual de resultados falsos negativo portanto não recomendando o uso do sistema manual para a rotina de hemoculturas.

PALAVRAS-CHAVE – hemocultura, cultura de sangue, pseudosepticemia.

SUMMARY – The septicemia is one of the causes of morbidity and mortality in children and adults. The difficulty in diagnosis is associated with obtaining the samples, and with the system used for culture, manual or automated. The objective of this research was to determine the frequency of pseudosepticemia and false negative in the automated and manual procedures used for hemocultures in two Centers for Diagnosis: the University Hospital and a Center of analysis and clinical researches. 973 blood samples were incubated in media recommended to use in Bactec 9240 and 9050, followed by culture in Blood agar, Chocolate agar, MacConkey and Sabouraud. The bacterial identification was performed by the Vitek (automated) and manual systems using biochemical tests in tubes. In 41 blood samples a comparative study was performed using automated culture systems and manual procedure. The results showed 12,33% of positives in the two Centers using automated system. Of the 932 cultures performed, 3,86% was considered pseudosepticemias, and 8,47% septicemias. The pseudosepticemias were represented by negative *Staphylococcus coagulase*, and the septicemias by: *Staphylococcus aureus* (19%), *Escherichia coli* (13,9%), negative *Staphylococcus coagulase* (11,4%), *Acinetobacter baumannii* (8,9%), *Enterococcus faecalis* (7,6%), *Klebsiella pneumoniae* (7,6%), *Enterobacter cloacae* (5,1%), *Streptococcus pneumoniae* (5,1%), others (11,4%) and yeasts (10%). In the 41 cultures, performed by the automated and manual systems, were detected 5 and 3 positive samples, respectively, with false negative result of 40% for the manual system. The percentage of positive hemocultures was similar in the two centers showing sample representativeness. The high incidence of pseudosepticemia emphasizes the pre-analytical cares and the evidence of a high percentage of false negative results does not recommend the use of a manual system for the routine of hemocultures.

KEYWORDS – pseudosepticemia, blood culture.

INTRODUÇÃO

A septicemia é uma infecção grave associada a altas taxas de morbidade e mortalidade; portanto, quanto mais rápida a detecção do agente causador, maior o impacto na sobrevida do paciente. A hemocultura, apesar de estudos e problemas inerentes as técnicas e aos resultados, é um dos mais importantes testes laboratoriais realizados para o diagnóstico de infecções agudas, principalmente em pacientes hospitalizados^{25, 28, 29}. Diversos sistemas para a realização das hemoculturas foram desenvolvidos, desde os métodos tradicionais baseados em sub-cultivos cegos e seriados, lise-centrifugação, até os que contam com monitoração contínua e automática na detecção da produção de CO₂ pelo desenvolvimento bacteriano. O objetivo de todas

estas metodologias foi no sentido de diminuir o tempo de isolamento microbiológico e incrementar o crescimento das bactérias⁴. Os estafilococos coagulase-negativos (ECN) constituem uma das espécies bacterianas freqüentemente isoladas da hemocultura. A prevalência dos patógenos gram-positivos na septicemia tem aumentado nestes últimos 20 anos, principalmente por causa do crescente isolamento dos ECN e dos enterococos. Entre 35% e 66% dos ECN clinicamente importantes são resistentes a meticilina/oxacilina^{7, 8, 12}. A vancomicina e a teicoplanina transformaram-se em antibióticos de primeira escolha para estes patógenos resistentes. A resistência simultânea a vancomicina e a teicoplanina é rara. Entretanto, como seu uso aumentou gradualmente, um aumento dos patógenos resistentes a estes antibióticos deve ser esperado^{10, 13}.

Recebido em 10/09/2004

Aprovado em 16/09/2004

Laboratório Álvaro¹, Hospital Universitário da USP², Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP³.

Vários autores têm encontrado incidências em berçários variando de ^{5,7 a 27,6} por 1.000 internações ^{1, 19, 21}. Um outro trabalho analisou um total de 159 crianças e 41,5% delas foram classificadas como septicemia por ECN, sendo 67,2% na UTI, demonstrando a susceptibilidade dos pacientes internados ²⁰. Um problema desse diagnóstico é o fato dos ECN fazerem parte da microbiota da pele, desse modo o clínico e o microbiologista encontram dificuldade em discernir entre uma bacteremia verdadeira de uma pseudo bacteremia (contaminantes) ¹¹. Diversos consensos para diferenciar bacteremia verdadeira de pseudo bacteremia ou contaminação foram publicados ^{4,14}. O principal fator de contaminação é a coleta inadequada da amostra. Vários protocolos de flebotomia especiais para hemocultura foram propostos e apesar do decréscimo da contaminação, não é possível preveni-la completamente, porque até 20% das bactérias ficam localizadas em estruturas da pele onde os anti-sépticos não conseguem penetrar ^{3, 23, 30}. Resultados falso-positivos podem causar desnecessária administração de antibióticos, principalmente entre os pacientes hospitalizados e crianças, desse modo além de provocar gastos excessivos ao hospital, têm um impacto potencial na emergência de patógenos multiresistentes ^{26, 27}. Resultados falsos negativos podem ocorrer pela presença de barreiras imunológicas, clínicas e laboratoriais ^{15, 18, 24}. Este trabalho propõe determinar a freqüência de pseudo-septicemia e falso negativo nos procedimentos automatizados e manuais em hemoculturas de dois centros diagnósticos: Hospital Universitário e um Centro de Análises e Pesquisas Clínicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período entre janeiro e março de 2004, foram analisados resultados de hemoculturas de pacientes adultos e pediátricos obtidas nos serviços de Microbiologia do Hospital Universitário da USP (São Paulo, SP) e do Laboratório Alvaro (Cascavel, PR). A punção venosa periférica foi realizada segundo as seguintes recomendações: 1) Lavar e secar as mãos; 2) remover os lacres da tampa dos frascos de cultura e fazer anti-sepsia prévia nas tampas com álcool a 70%; 3) Garrotear o braço do paciente e selecionar uma veia adequada; 4) usar luva estéril e fazer anti-sepsia com álcool a 70% (uso de gaze estéril na ponta de uma pinça) de forma circular e de dentro para fora; 5) aplicar solução de Polivinil Pirrolidona Iodo a 10% (PVPI a 10%), também com movimentos circulares e de dentro para fora. Para ação adequada do iodo, deixar secar 1 a 2 minutos antes de efetuar a coleta; 6) colocar um campo cirúrgico pequeno e por punção venosa coletar a quantidade de sangue (antes do pico febril) em uma relação de 1:10 em relação ao meio de cultura; 7) coletar para anaeróbios injetando o sangue no frasco sem permitir a entrada de ar e aeróbio, injetando o sangue e tirando a seringa deixando entrar ar (esta operação é feita colocando uma gaze estéril sobre a agulha); 8) Fazer no mínimo duas coletas em sítios diferentes nas 24 horas. Após a amostra injetada assepticamente nos frascos com meio de cultura do equipamento Bactec (Becton Dickinson, USA) foram incubados por um período máximo de 7 dias ou até detecção da positividade, conforme instruções do fabricante.

Os frascos utilizados continham inibidor de antibiótico que propicia a coleta da amostra mesmo na vigência do antibiótico. Cada frasco tem um sensor químico que consegue detectar aumentos de CO₂ produzidos pelo cresci-

mento dos microorganismos. O sensor monitorou através do instrumento a cada 10 minutos relativamente ao aumento da fluorescência, proporcional a quantidade de CO₂ presente. Uma leitura positiva indicava a presença presuntiva de microorganismos viáveis no frasco. Assim que a positividade foi detectada o equipamento emite um sinal indicando que determinado frasco era positivo e os frascos foram retirados do equipamento. Nestes frascos detectados pelo equipamento como positivos foi realizada bacterioscopia direta do caldo de cultura e em seguida semeado em Agar chocolate, Agar sangue, Agar MacConkey ou seletivamente em outro meio dependendo da bactéria visualizada microscopicamente. As placas foram incubadas em estufa 35°C ± 1°C por 18 a 24 horas (Agar chocolate e Agar sangue foram incubadas em atmosfera de CO₂). Após o período de incubação e o aparecimento de colônias, foi realizada a identificação dos microorganismos isolados pelo equipamento Vitek (Becton Dickinson, U.S.A). Quando necessário foram realizadas provas bioquímicas adicionais e antibiogramas por técnicas manuais. No procedimento manual de hemocultura os critérios de coleta foram os mesmos do automatizado, o meio de cultura usado foi o caldo TSB (Caldo Tripton de Soja) com SPS (Polianetol Sulfonato de Sódio) com ação complementar anti-fagocitária e anti-coagulante. A partir de 12 horas de incubação, foi observado se ocorria qualquer evidência de crescimento bacteriano (turvação, hemólise ou formação de gás). Havendo positividade foi realizada bacterioscopia direta pelo método de Gram e inoculação em Agar Sangue, Agar chocolate (em atmosfera de CO₂) e MacConkey. Ocorrendo o crescimento de colônias, a identificação foi realizada através de provas bioquímicas em tubos. Paralelamente a investigação visual de cada frasco de hemocultura, foram submetidos a subcultivos cegos após 6, 12 e 24 horas com o objetivo de recuperar certos tipos de microorganismos que poderiam estar presentes nas amostras e não terem sido detectados por não alterarem o aspecto do meio de cultura.

Os critérios usados para avaliar pseudo septicemia foram os seguintes: quando ECN ou outra bactéria constituinte da flora normal da pele, presente na hemocultura, preenchia-se um ou mais dos seguintes requisitos: 1) houve crescimento bacteriano somente em um dos frascos de cultura quando coletado pelo menos dois frascos; 2) crescimento poli-microbiano; 3) aspectos clínicos não eram evidentes (febre, choque e outros) ; 4) não apresentava leucocitose no hemograma^{8,16,31}. O critério para avaliar falso negativo foi a comparação entre os dois sistemas, manual e automático, considerando como padrão ouro o sistema automatizado Bactec.

RESULTADOS

Das 932 amostras de sangue cultivadas no Hospital Universitário da USP, pelo sistema automatizado Bactec, 115 foram positivas (12,33%), sendo 79 (8,47%) septicemias e 36(3,86%) pseudo-septicemias. A prevalência bacteriana (tabela I) foi; *Staphylococcus aureus* (19%), *Escherichia coli* (13,9%), *Sphylococcus coagulase-negativa* (11,4%), *Acinetobacter baumannii* (8,9%), *Enterococcus faecalis* (7,6%), *Klebsiella pneumoniae* (7,6%), *Enterobacter cloacae* (5,1%), *Streptococcus pneumonia* (5,1%), outras bactérias (11,4%), *leveduras* (10,0%). No Laboratório Alvaro (amostras de pacientes internados nos hospitais da cidade de Cascavel) 41 amostras de sangue foram cultivadas pelo sistema automatizado e manual, a prevalência

de resultados positivos foi de 5 casos (12,19%) no método automatizado e o tempo médio de positividade foi de 36 horas. No processo manual foi detectado 3 (7,3%) amostras positivas e o tempo médio de positividade foi de 152 horas. (tabela II e III).

TABELA I - Prevalência de microrganismos isolados das 79 hemoculturas positivas realizadas no Hospital Universitário da USP.

Microrganismos	No. (%) isolado
<i>Staphylococcus aureus</i>	15(19,0)
<i>Escherichia coli</i>	11(13,9)
<i>Staphylococcus Coagulase-Negativa</i>	9(11,4)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	7(8,9)
<i>Enterococcus faecalis</i>	6(7,6)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6(7,6)
<i>Enterobacter cloacae</i>	4(5,1)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4(5,1)
Outros	9(11,4%)
Leveduras	8(10,0%)

TABELA II - Microrganismos isolados das 5 amostras positivas de Hemoculturas incubadas no sistema automatizada Bactec 950 e o tempo de positividade.

Microrganismo	Positividade (horas)
<i>Staphylococcus aureus</i>	48
<i>Enterobacter cloacae</i>	48
<i>Escherichia coli</i>	36
<i>Enterobacter aerogenes</i>	24
<i>Staphylococcus aureus</i>	24
Tempo médio	36

TABELA III - Microrganismos isolados das 3 amostras positivas de Hemoculturas incubadas no sistema manual (TSB) e o tempo de positividade.

Microrganismo	Positividade (horas)
1 - <i>Staphylococcus aureus</i>	168
2 - <i>Staphylococcus aureus</i>	168
3 - <i>Escherichia coli</i>	120
Tempo médio	152

DISCUSSÃO

No presente estudo das 115 amostras de sangue cultivadas de pacientes cujas coletas (duas ou mais) apresentaram culturas positivas, 79(8,47%) foram consideradas septicemias verdadeiras e 36(3,86%) pseudo septicemias, com hemoculturas falso-positivas ou culturas contaminadas; de acordo com os critérios estabelecidos previamente^{16,22,32}. As bactérias isoladas nas culturas consideradas como pseudo septicemias, foram em sua totalidade isoladas *Staphylococcus coagulase-negativos* (ECN). Diversos autores têm demonstrado a relevância do número de hemoculturas positivas por ECN^{11, 14, 18} e a maior frequência

(80%) quando detectados somente em uma das amostras coletadas. O problema da contaminação das hemoculturas é mundial e chegou a índices de até 50% das culturas realizadas em alguns hospitais^{16,18,30}. Após consensos e recomendações padronizadas^{3,24,31,31} houve uma redução significativa, porém ainda permanecem prevalências de falsos positivos na faixa de 3% a 20%^{14,22,26,32}. Em alguns serviços de microbiologia as proporções de pacientes com pseudo septicemias estiveram relacionadas com o uso de cateteres vasculares, chegaram a 31,2% das septicemias¹¹. Estudo em pacientes hospitalizados tem mostrado que somente 7,5% a 12,4% dos resultados de hemocultura são positivos em todas as amostras realizadas e destes, 4,9% são considerados falso-positivas (pseudo septicemia)^{6,31}. Por outro lado a frequência de falso-negativas tem sido imputado a fatores imunológicos (lisozimas, fatores do complemento, neutrófilos e anticorpos), bacteremia intermitente, baixo número de unidades formadoras de colônias detectáveis, volume de sangue coletado, número de amostras, vigência de antimicrobianos, meios de cultura e sistema de coleta usado²⁴. Os resultados apresentados neste trabalho, comparando o método tradicional manual com o automatizado Bactec, demonstraram que somente 3 amostras foram positivas com o método manual e 5 no sistema automatizado, apresentando resultados falso-negativos de 40% para o sistema manual. Além disso, o tempo de positividade no sistema manual, média de 152 horas, e 36 horas no sistema automatizado (tabela II e III).

Em um estudo prospectivo multicêntrico de pacientes hospitalizados, houve uma prevalência de 9% destes, com suspeita clínica de septicemia e uma mortalidade em torno de 60%. No entanto documentação microbiológica confirmando o diagnóstico (hemocultura), somente foi possível em 71% dos pacientes com suspeita de septicemia². Diversos são os fatores que contribuem para o insucesso do diagnóstico microbiológico, porém, além destes, o uso do sistema manual de cultura em TSB é uma alternativa pouco segura para o diagnóstico de septicemia.

Por outro lado, os percentuais de falso-positivos (pseudo septicemias) mostram que apesar do cumprimento de todas as recomendações, consegue-se diminuir esta frequência sem, contudo, eliminá-las completamente.

REFERÊNCIAS

- Battisti, O.; Mitchison, R.; Davies, P.A. Changing blood culture isolates in a reference neonatal intensive care unit. *Arch Dis Child.*, 56:775-8,1981.
- Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, et al. Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults: a multicenter prospective study in intensive care units; French ICU Group for Severe Sepsis. *JAMA*, 274:968-974,1995.
- Calfee, D. P. & Farr, B.M. Comparison of four antiseptic preparations for skin in the prevention of contamination of percutaneously drawn blood cultures: a randomized trial. *J. Clin. Microbiol*,40(5):1660-1665, 2002.
- Chandrasekar PH, Brown WJ. Clinical issues of blood cultures. *Arch Intern Med.*, 25;154(8):841-9,1994.
- Cockerill FR III, Torgerson CA, Reed GS, Vetter EA, Weaver AL, Dale JC, Roberts GD, Henry NK, Ilstrup DM, Rosenblatt JE. Clinical comparison of difco ESP, Wampole isolator, and Becton Dickinson Septi-Chek aerobic blood culturing systems. *J Clin Microbiol*, 34(1):20-4,1996.
- Darby JM; Linden P; Pasculle W; Saul M. Utilization and diagnostic yield of blood cultures in a surgical intensive care unit. *Crit Care Méd*, 25(6):989-94, 1997.
- Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. *Clin Infect Dis.*, 29(2):239-44,1999.

Avaliação da Resistência de drogas antituberculosas no Estado do Ceará no período de 2000 - 2002*

Evaluation of the resistance antituberculosis drug in the State of Ceará in the period of 2000 -2002*

Ana Kélvia Araújo¹; Everardo Albuquerque Menezes²; Cynthia Duarte Santos¹; Francisco Afrânio Cunha² e Creusa Lima Campelo¹

RESUMO - Tuberculose Multidrogaresistente (MDR) é uma preocupação mundial e sua magnitude tem grande importância no Estado do Ceará, região Nordeste do Brasil. O objetivo deste estudo foi determinar a MDR em nosso Estado e o perfil de resistência local às drogas antituberculose. Foi realizado um estudo retrospectivo utilizando-se a lista de 963 testes de sensibilidade (TS) para Rifampicina (RFP), Isoniazida (INH), Estreptomicina (SM), Pirazinamida (PZA), Etambutol (EMB) e Etionamida (ETH), estes testes foram realizados no Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Ceará (LACEN), no período de 2000 -2002. A metodologia do TS utilizada foi o método das proporções. A Resistência primária ou adquirida a pelo menos uma droga foi observada em 240 de 963 (24,9%) cepas; 172 (17,8 %) casos foram classificados como MDR devido à resistência a pelo menos RFP + INH. A positividade das amostras para tuberculose no LACEN foi em torno de 10%. A Isoniazida foi o tuberculostático mais resistente quando testado isoladamente. E a principal multirresistência aos tuberculostáticos observados foram com 2 drogas (Isoniazida + Rifampicina) e 3 drogas (Isoniazida + Rifampicina + Estreptomicina). Medidas preventivas, diagnóstico precoce e incentivo à pesquisa de novas drogas efetivas e seguras devem ser estimulados no combate à MDR.

PALAVRAS CHAVES – Tuberculose multidrogaresistente (MDR), Mycobacterium tuberculosis, Resistência primária.

SUMMARY - Tuberculosis Multidrugresistente (MDR) it is a world concern, but its magnitude has bigger importance in the State of Ceará, Northeast area of Brazil. The objective of this study was determine MDR in our State and the profile of local resistance to the drugs antituberculosis. Was made a retrospective study, was used a list of 963 sensibility tests (TS) for Rifampicin (RFP), Isoniazid (INH), Streptomycin (SM), Pyrazinamide (PZA), Ethambutol (EMB) and Ethionamide (ETH) accomplished in the Central Laboratory of Public Health of the State of Ceará (LACEN), in the period of 2000 - 2002. The method of the proportions was used. The primary or acquired resistance the at least a drug was observed in 240 of 963 (24.9%) strains; 172 (17.8%) cases were classified like MDR due to the resistance the at least RFP + INH. The tuberculosis frequency in LACEN was of around 10%. Isoniazid was the most resistant tuberculostatic agent when tested separately. And the main agent multiresistente was observed with two drugs (Isoniazida + Rifampicina) and three drugs (Isoniazida + Rifampicina + Estreptomicina). Preventive measures, precocious diagnosis and motivate to the research of new effective and safe drugs should be stimulated in the combat to MDR.

KEYWORDS – Multidrugresistente tuberculosis, Mycobacterium tuberculosis, primary resistance

INTRODUÇÃO

A tuberculose existe desde eras imemoriais. Lesões ósseas de múmias egípcias e de índios norte-americanos, datando de cepas de cerca de 4.000 anos, revelam que nessa época remota já se sofria de Mal de Pott. A tuberculose foi identificada como doença pelos judeus, tendo sido escolhida para castigar os transgressores das escrituras. Por motivos óbvios, nos achados de lesões ósseas, não foi possível fazer a comprovação etiológica da tuberculose⁸. A tuberculose difundiu-se através dos tempos, sendo de longa data conhecida como uma das maiores causas de mortalidade. Fez enormes devastações nas grandes aglomerações humanas, no século dezanove e na primeira metade do século vinte. No século dezanove, a tuberculose concorreu com aproximadamente um décimo da mortalidade geral na Europa. Na segunda década do século passado, os coeficientes de mortalidade tuberculosa iam de 150 a mais de 300 por 100.000 em todas as grandes metrô-

poles do mundo. Em 1940, a mortalidade, na quase totalidade das capitais brasileiras, era de 150 a 500 por 100.000. A partir da década dos anos 50 caiu abruptamente com o advento da moderna quimioterapia. Essa queda deu-se mais rapidamente nos países industrializados que nas áreas geográficas mais pobres. Com a grande redução da morbidade de tuberculose até o final dos anos 70, houve relaxamento da rede de saúde pública, do Serviço Central de Tuberculose, com a diminuição do pessoal de saúde e outras supressões. Disso, resultou em 1989, redução pela metade das curas do programa de tratamento⁸. Tuberculose é uma doença causada pela bactéria Mycobacterium tuberculosis, comumente designada "bacilo da tuberculose" ou bacilo de Koch. A bactéria pode atacar qualquer parte do corpo, mas em 70% dos casos ela se restringe aos pulmões, uma vez que a porta de entrada dos bacilos é pelas vias aéreas. Uma pessoa com a doença espalha os bacilos pelo ar quando tosse ou espirra e contamina as pessoas que estão por perto¹¹.

Recebido em 27/09/2004

Aprovado em 25/10/2004

* Trabalho realizado no Laboratório Central de Saúde Pública do estado do Ceará.

¹Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Ceará.

²Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará

Uma pessoa que é infectada não fica doente logo em seguida. Cerca de 90% das pessoas infectadas não desenvolvem a doença. Nosso organismo tem uma resistência natural contra os bacilos. O estabelecimento da doença vai depender do estado imunológico do indivíduo e também da quantidade e da virulência dos bacilos inalados¹¹.

O aumento de cepas do *Mycobacterium tuberculosis* é problema preocupante por ser importante fator agravante da epidemia tuberculosa. A resistência do bacilo da tuberculose tem crescido no mundo pela intervenção inadequada humana e espontânea dos germes. Normalmente há uma constância matemática em cada população de bacilos resistente a cada droga⁸.

No Brasil, como já foi assinalado com propriedade, a tuberculose não é uma doença reemergente, como se tem considerado no enfoque global no mundo, "pois nunca chegou a desaparecer" e "também não é doença emergente, pois há tempo apresenta incidência elevada, constituindo sério problema de saúde pública"¹⁰.

A importância da realização deste trabalho é devido a grande preocupação do crescimento da incidência da tuberculose e dos casos de tuberculose multiresistente em todo o mundo.

Os objetivos deste trabalho foram estudar os casos de Tuberculose diagnosticados no LACEN/CE, no período de 2000 a 2002; verificar a frequência de tuberculose multiresistente no Estado do Ceará; verificar o perfil de resistência do *Mycobacterium tuberculosis* isolados no LACEN/CE e traçar o perfil de resistência no Estado do Ceará da tuberculose multiresistente.

MATERIAL E METODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo da susceptibilidade antimicrobiana de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* no Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Ceará, de 2000 a 2002, local de referência no Estado do Ceará. Os Testes de Susceptibilidade foram supervisionados pelo centro de Referência Hélio Fraga. Foi usado o meio de cultura de Lowenstein-Jensen, este meio juntamente com as drogas foram incubados durante 28 dias à temperatura de 37°C. As drogas utilizadas no Teste de Sensibilidade (TS) foram Isoniazida, Rifampicina, Pirazinamida, Etambutol, Estreptomina e Etionamida. Para o TS foi utilizado o método das proporções com meio sólido e resistência foi definida como crescimento de pelo menos 1% de colônias sob concentrações críticas das drogas (0,2 mg/mL para Isoniazida, 2 mg/mL para Etambutol e 40 mg/mL para Rifampicina) e crescimento de pelo menos 10% de colônias sob concentrações críticas das drogas (20 mg/mL para Etionamida, 100 mg/mL para Pirazinamida e 4 mg/mL para Estreptomina). Definimos Tuberculose multidrogaresistente (MDR) como resistência a pelo menos, Rifampicina (R) e Isoniazida (I).

RESULTADOS

No período estudado a positividade das amostras ao *Mycobacterium tuberculosis* no LACEN foi em torno de 10% (1.400 amostras positivas).

A média etária das pessoas em que realizaram a pesquisa de *Mycobacterium tuberculosis* e o Teste de Sensibilidade foi em torno de 40,17 ± 14,62.

Em relação ao sexo foi observado uma frequência maior em pacientes do sexo masculino (60%).

A tabela 1 mostra a frequência de resistência aos tubercu-

lostáticos. A frequência da resistência aos tuberculostáticos foi 24,9%.

A tabela 2 mostra a monoresistência dos tuberculostáticos estudados nesta pesquisa, que foi observado na Isoniazida de 2,7%.

A tabela 3 mostra a multiresistência dos tuberculostáticos, foi observado a maior resistência à duas drogas (Isoniazida + Rifampicina – 11,3%).

Neste estudo foi observado uma resistência maior em drogas combinadas do que isoladas, como pode ser verificado pela tabelas 3.

TABELA I
Frequência da resistência aos tuberculostáticos a *Mycobacterium tuberculosis* isolados no Laboratório Central do Estado do Ceará, 2000-2002

	Pacientes	%
Pacientes	963	100
Sensíveis	723	75,1
Qualquer resistência	240	24,9

TABELA II
Número de monoresistência de drogas usadas para tuberculose isolados no Laboratório Central do Estado do Ceará, 2000-2002

Mono-resistência	31	3,2 %
Isoniazida – I	26	2,7
Rifampicina – R	04	0,4
Streptomina – S	01	0,1
Etionamida – E	0	0
Etambutol – Et	0	0
Pirazinamida – Z	0	0

TABELA III
Número de multiresistência de tuberculostáticos a *Mycobacterium tuberculosis* isolados no Laboratório Central do Estado do Ceará, 2000-2002

Multidroga resistência	172	17,8 %
2 drogas IR	109	11,3
3 drogas IRS	38	4,0
3 drogas IRE	03	0,3
3 drogas IRZ	04	0,4
4 drogas IRSZ	04	0,4
4 drogas IRSE	06	0,6
5 drogas IREtZ	03	0,3
5 drogas IRSEZ	03	0,3
06 drogas IRSEtEZ	02	0,2

DISCUSSÃO

O aumento da incidência de cepas do *Mycobacterium tuberculosis* é problema preocupante por ser importante fator agravante da epidemia tuberculosa. A resistência do bacilo da tuberculose tem crescido no mundo pela intervenção inadequada humana na mutação espontânea dos germes. Normalmente há uma constância matemática em cada população de bacilos resistentes a cada droga.

No Brasil há tendência de considerar a MDR como sendo a resistência do *M. tuberculosis* a três ou mais drogas. Na literatura internacional, porém, o termo engloba a resistência simultânea à Isoniazida e Rifampicina. Acredita-se em haver maior propriedade em considerar a dupla resistência a essas duas drogas, como sendo multidrogaresistência, porque este termo implica em importante prejuízo epidemiológico, dado que com resistência dupla à Isoniazida e Rifampicina, os doentes não se beneficiam com o esquema tríplice empregado no programa de controle da tuberculose no país. Neste estudo considera-se como MDR, inclusive os casos resistentes às duas drogas acima citadas.

No estudo verificou-se que a positividade das amostras ao *Mycobacterium tuberculosis* no LACEN foi em torno de 10%, este dado está bem abaixo do citado pela literatura que é de aproximadamente 40%⁴.

Em relação a faixa etária observou-se que a média etária das pessoas em que realizaram a pesquisa de *Mycobacterium tuberculosis* e o Teste de Sensibilidade foi em torno de 40,17 ± 14,62. Este dado condiz com a literatura, pois a tuberculose em crianças é bastante rara⁴.

Neste estudo verificou-se que em relação ao sexo ocorreu uma frequência maior em pacientes do sexo masculino (60%). Segundo Koneman *et al.*, 2001, o sexo masculino tem mais risco de contrair tuberculose, provavelmente devido ao fato do homem está mais exposto ao agente nas ruas e em locais públicos, onde há concentração de muitas pessoas, enquanto as mulheres tem uma exposição menor. O *M. tuberculosis* apresenta uma frequência de mutantes naturalmente resistentes as drogas, variável de acordo com cada uma delas. Essa resistência natural se deve a mutações genéticas, e existe freqüentemente nas populações bacilares, antes mesmo da exposição as drogas. A ocorrência de tratamentos irregulares, abandono do tratamento antes da cura efetiva ou o uso de doses inadequadas, propicia o aparecimento de cepas resistentes as drogas, constituindo a chamada resistência adquirida. Bacilos resistentes assim selecionados, exigem drogas diferentes das usadas anteriormente, e podem ser transmitidos para outros indivíduos que mesmo sem uma exposição prévia às drogas, apresentam cepas resistentes⁹.

As principais causas de abandono do tratamento são devido ao tempo prolongado do tratamento, efeitos adversos das drogas, interações entre as drogas, intolerância intestinal, reações cutâneas e neurológicas, hepatotoxicidade, artralgias, interações com outras drogas e outras manifestações como trombocitopenia e anemia hemolítica⁹.

O tratamento inadequado favorece ao aparecimento de cepas resistentes a mais de uma droga, ou seja a, a multiresistência. No Brasil é considerado como resistência as três principais drogas normatizadas pelo Ministério da Saúde⁹. Observou-se um aumento considerável do número de Testes de Sensibilidade realizados neste período de 2000 a 2002, 963 Testes de Sensibilidade em apenas 3 anos, quando comparado com o trabalho de Barroso *et al.*, 2001 que foram realizados 1500 testes em 10 anos no estado do Ceará (1990-1999), logo no LACEN em 10 anos iremos fa-

zer bem mais do que o total realizado pelo autor citado. No presente trabalho observou-se uma redução no número de monoresistência, e verificou-se que, no trabalho de Barroso *et al.*, 2001, a Isoniazida isoladamente obteve uma resistência de 5,7% sendo maior do que a do LACEN, neste período que foi de 3,2 % .

Na tabela 2, verificou-se que o número de multiresistência de tuberculostáticos de *Mycobacterium tuberculosis* isolados no Laboratório Central do Estado do Ceará, 2000-2002 foi mais considerável com duas (11,3%) e três drogas (4%), isto pode ser explicado pelo abandono do tratamento da tuberculose considerado como um dos fatores da resistência aos anti-tuberculostáticos, relatado por Lima *et al.*, 2001.

Pérez - Guzmán *et al.*, 1999 afirma que um terço da população mundial está infectada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, e é considerada como causa importante de morte, através deste trabalhos pode-se também supor que esta afirmação pode ser verdadeira, principalmente pelo fato da resistência aos tuberculostáticos disponíveis no mercado, sendo, porém um grave problema de Saúde Pública.

As causas principais de fracassos do tratamento para Tuberculose Multiresistente são a não aderência ao tratamento, má absorção da droga, associação incorreta de medicamentos, imunodeficiência e as outras condições associadas a tuberculose. O fracasso do tratamento para Tuberculose Multiresistente ameaça a saúde de pacientes com tuberculose, e também colocam a saúde pública em risco porque eles podem conduzir a infecções prolongadas e a transmissão de Tuberculose dentro da comunidade⁷.

Pelo presente trabalho, verificou-se que a incidência de Tuberculose Multiresistente em pacientes com Tuberculose diagnosticados no LACEN apresenta-se bem próximo aos índices de países como os Estados Unidos, apresentando-se como um problema que ocorre em todo mundo, principalmente em países em desenvolvimento, como o Brasil, que deve ter uma maior atenção por parte do Ministério da Saúde e profissionais da área, quanto ao uso adequado e racional dos esquemas terapêuticos, como também, um trabalho maior de conscientização dos pacientes com Tuberculose quanto ao tratamento, para assim evitar ou diminuir os casos de abandono ou tratamentos irregulares, para que no futuro, não venha se tornar uma doença sem drogas viáveis para o tratamento.

CONCLUSÃO

A Positividade das amostras para tuberculose no LACEN foi em torno de 10%, perfazendo cerca de 1.400 amostras positivas no período estudado. A Isoniazida foi o tuberculostático que mais encontrou resistência quando testado isoladamente (2,7%). A principal multiresistência aos tuberculostáticos observados foram com 2 drogas - 11,3% (Isoniazida + Rifampicina) e 3 drogas - 4% (Isoniazida + Rifampicina + Estreptomina).

REFERÊNCIAS

1. Barroso, C.L., Rodrigues, J.L.N., Pinheiro, V.G.F., Campelo, C.L. Prevalência da tuberculose multiresistente no Estado do Ceará, 1990-1999.
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro de Referência Prof. Hélio Fraga. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Controle da tuberculose: uma proposta de integração ensino-serviço. 5ª ed. - Rio de Janeiro: FUNASA/CRPHF/SBPT, 2002. 236 p. il.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro de Re-

ferência Professor Hélio Fraga. Manual de Bacteriologia da tuberculose. 2ª edição, Rio de Janeiro, 1994.

4. Koneman, E. W.; Allen S. D.; Janda, W. M.; Schreckenberger, P.C.; Winn Jr, W. C. Diagnóstico Microbiológico, São Paulo; 5ª Edição, 2001

5. Lima, M.B., Mello, D.A., Morais, A.P.P., Silva, W.C. Estudo de casos sobre abandono do tratamento da tuberculose: avaliação do atendimento, na percepção e conhecimentos sobre a doença na perspectiva dos clientes, Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 17(4): 877-885, jul-ago, 2001.

6. Perez-Guzman, C., Cruz, A.T., Falconi, F.Q., Velarde, H.V. Tuberculosis drogoresistente: Algunas consideraciones clínicas, Trabajo de revisión, Revista Inst. Nal Enf Resp Mex, Volumen 12 - número 2, Abril - Junio, 1999, Pags. 143-147

7. Piloneto, M. & Piloneto, D. V. - Manual de procedimentos laboratoriais em Microbiologia - POPs em Microbiologia; Microscience Editora, São Paulo, 1998.

8. Rosemberg, J. - Tuberculose - Panorama global. Óbices para o seu controle. Fortaleza - Ce, 1999.

9. Rouquayrol, M.Z. & Almeida Filho, N. - Epidemiologia e Saúde. Quinta edição, Rio de Janeiro, Editora MEDSI, 1999.

10. Ruffino Netto, A - Brasil e a tuberculose - doença emergente ou reemergente? Bol Pneum Sanit, 1997; 5:3

11. SITE ACESSADO: <http://www.epub.org.br/comciencia>, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, publicado em 01/10/1999, acessado em 20 de fevereiro de 2003/ 14:00hs

Endereço para correspondência:
 Rua Graciliano Ramos, 445 Apt. 302
 Bairro: Fátima
 CEP: 60415-050
 Fortaleza-Ce
 Fone: 85-3081-6264/ 85 - 433-9166

Título de Especialista em Análises Clínicas

O que é e como obtê-lo?

O TEAC - Título de Especialista em Análises Clínicas, é um documento outorgado pela SBAC - Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, no qual somente os profissionais que exercem as Análises Clínicas, e que sejam legalmente habilitados para assumirem a responsabilidade técnica por Laboratórios Clínicos, de acordo com a legislação federal vigente no país, é que podem prestar o Concurso para obter o Certificado do Título de Especialista em Análises Clínicas.

Para se inscrever no concurso do TEAC, os candidatos deverão solicitar o regulamento e ficha de inscrição à SBAC Nacional ou nas Regionais/Delegacias, por fax, telefone, e-mail, carta ou pessoalmente.

Condições para inscrição no Concurso do TEAC:

- Os candidatos habilitados a prestarem o Concurso são: Farmacêutico-bioquímico, Médico e Biomédico.
- Ser sócio da SBAC efetivo e estar em dia com os seus deveres estatutários.
- Preencher ficha de inscrição, colocando quais as matérias de peso 03 e 02.
- 1 O candidato obrigatoriamente terá que escolher as matérias de peso 03 e 02, a peso 03 deverá ser a matéria de maior conhecimento do candidato, e peso 02 a Segunda matéria de maior conhecimento do candidato, as outras matérias contarão como peso 01.
- Pagar taxa de inscrição do concurso.
- Para os inscritos no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, haverá desconto de 50% na taxa de inscrição do Concurso do TEAC.
- Após estes procedimentos, o candidato tem direito de receber o Programa do Concurso (impresso ou em disquete).

As Disciplinas:

- De acordo com o Programa o Candidato é avaliado pela Banca Examinadora do Concurso, no qual terá que ser aprovado nas seguintes Especialidades das Análises Clínicas:
 - Bioquímica Clínica;
 - Hematologia Clínica;
 - Imunologia Clínica;
 - Microbiologia Clínica;
 - Parasitologia Clínica.
- O conteúdo programático do Controle da Qualidade e da Segurança, é aplicado a essas disciplinas.
- Excepcionalmente o candidato também poderá ter como opção a matéria de Citologia Esfoliativa, sendo obrigatoriamente a primeira opção. Neste caso, o candidato também terá que se inscrever no Concurso para obtenção do TECC - Título de Especialista em Citologia Clínica, pela SBCC - Sociedade Brasileira de Citologia Clínica, sendo aprovado receberá o certificado pela SBCC.
- Tendo sido aprovado no Concurso para obtenção do TECC, e no Concurso para obtenção do TEAC, o Certificado do Título de Especialista em Análises Clínicas, terá o apostilamento em Citologia Esfoliativa no verso do Certificado.

5 - Não tendo sido aprovado no Concurso para obtenção do TECC, e sendo aprovado no Concurso do TEAC, o candidato terá o Certificado do Título de Especialista em Análises Clínicas, sem o apostilamento em Citologia Esfoliativa.

6 - Os portadores do Título de Especialista em Análises Clínicas, que se submeterem à prova para obtenção do TECC, pela SBCC e forem aprovados, terão seus Títulos apostilados no verso a especialidade de Citologia Esfoliativa.

As Provas:

O Concurso do TEAC é composto das Provas Escritas, Práticas de Conhecimento (dissertativa, Oral e Slide) e de Títulos (exercício profissional e atualização de conhecimentos).

Obs: a avaliação em Citologia pela SBCC, será Prova Escrita, Prática e Avaliação curricular.

Avaliação da Prova de Títulos a Outorga do TEAC:

Os Candidatos aprovados, terão que enviar num prazo máximo de 2 anos (de acordo com o Regulamento do TEAC), Currículo Vitae e cópia de documentação comprobatória de exercício profissional e atualização de conhecimentos.

Validade do TEAC:

O TEAC é um documento que tem validade de 05 (cinco) anos, de acordo com o seu Regulamento. Sendo assim, após 5 (cinco) anos da data de outorga ou da data da última renovação do Título de Especialista o profissional terá que comprovar que continua exercendo a profissão e que se atualizou nos últimos cinco anos, enviando os documentos que somem 2.000 pontos de acordo com o Capítulo III - Da Avaliação, Artigo 8º, do Regulamento do TEAC.

O Portador do TEAC que, na renovação não atingir o valor de pontos determinado no Regulamento, poderá submeter-se as Provas de Conhecimentos, que serão avaliadas, de acordo com o item 1 do Artigo 8º.

Próximo Concurso do TEAC e TECC:

Os próximos Concurso para Outorga do Título de Especialista em Análises Clínicas e Concurso para outorga do Título de Especialista em Citologia Clínica será realizado durante o 32º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas e 5º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica, nos dias 22 e 26 de maio de 2005, em Goiânia - GO.

Para os inscritos no 32º congresso Brasileiro de Análises Clínicas e 5º congresso Brasileiro de Citologia Clínica, haverá um desconto de 50% nas inscrições.

Caso ainda não esteja inscrito no congresso, o interessado deverá fazê-lo até 30 dias antes do início do evento.

Informações gerais:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - SBAC
 Tel/fax (0xx21) 2264-4449 e 2204-0245 ou e-mail: teac@sbac.org.br

Sociedade Brasileira de Citologia Clínica - SBCC
 Tel/fax (0xx62) 229-0468 e 223-5661 ou e-mail: sbacgo@terra.com.br

Aplicação do D-dímero na investigação de distúrbios tromboembólicos

D-dimer testing in the investigation of thromboembolic disorders

Rafael Noal Moresco^{1,2} e Lúcia Mariano da Rocha Silla^{1,2}

RESUMO - A hemostasia requer um interessante equilíbrio entre a coagulação e a fibrinólise. Durante a formação de um trombo, os polímeros da fibrina são degradados pela plasmina e passam a dar origem a produtos de degradação de diferentes pesos moleculares. O menor e melhor caracterizado destes produtos é o D-dímero. Embora baixos níveis de D-dímero possam ser detectados na circulação de indivíduos saudáveis, seus níveis aumentam significativamente nos pacientes com trombose venosa profunda (TVP), embolia pulmonar (EP), coagulação intravascular disseminada, infarto do miocárdio, câncer, sepse, entre outros. O D-dímero é reconhecido atualmente como o mais específico indicador de ativação da coagulação e de fibrinólise. Os ensaios para a detecção do D-dímero são utilizados em muitos laboratórios na investigação de distúrbios hemostáticos associados com a ativação do sistema fibrinolítico, incluindo os eventos tromboembólicos. A sua principal aplicação clínica diz respeito à possibilidade de exclusão diagnóstica de distúrbios tromboembólicos quando os seus níveis estão normais.

PALAVRAS-CHAVE - D-dímero, embolia pulmonar, trombose venosa profunda.

SUMMARY - Haemostasis requires an interesting balance between coagulation and fibrinolysis. During thrombus formation, plasmin degrades cross-linked fibrin polymers resulting in the formation of a number of soluble cross-linked fibrin degradation products of varying molecular weights. The smallest and most well characterized of these products is D-dimer. Although low levels of D-dimer can be detected in the circulation of healthy individuals, their levels are significantly elevated in patients with deep venous thrombosis (TVP), pulmonary embolism (EP), disseminated intravascular coagulation, myocardial infarction, cancer, including hepatocellular carcinoma, and sepsis. D-dimer is now accepted as a global indicator of coagulation activation and fibrinolysis. Assays for detection of D-dimer are used in many laboratories for the investigation of disorders associated with activation of the coagulation and fibrinolytic systems, including thromboembolic disorders. The major application of D-dimer testing is the possibility of rule out the diagnosis of TVP and EP when D-dimer levels are normal.

KEYWORDS: D-dimer, pulmonary embolism, deep venous thrombosis.

INTRODUÇÃO

A hemostasia pode ser definida como o processo que consiste na manutenção do fluxo sanguíneo no estado fluido e na prevenção da perda de sangue ocorrida nas situações onde ocorre o comprometimento e o rompimento vascular. Para que essas funções ocorram normalmente no organismo, são necessários dois componentes principais: (a) um potente mecanismo pró-coagulante capaz de formar tampões hemostáticos nos sítios comprometidos por rompimento vascular; (b) um sistema regulatório com capacidade de limitar a formação de tampões hemostáticos somente para as áreas comprometidas. A hemostasia normal é mantida por um delicado equilíbrio entre os mecanismos pró-coagulante e regulatório. No momento em que este equilíbrio é rompido, ocorre a instalação de um distúrbio hemostático com sangramento excessivo ou com a formação de coágulos¹.

Os distúrbios hemostáticos, destacando os episódios tromboembólicos, acometem um grande número de pacientes internados em hospitais, sendo que as complicações decorrentes desses quadros fazem com que parte destes pacientes evolua ao óbito. O diagnóstico de trombose venosa pro-

funda (TVP) e embolia pulmonar (EP) pode ser difícil, exigindo a realização de testes invasivos que consomem um elevado tempo e geram também um custo elevado para o sistema de saúde. Com isso, há um crescente interesse na implantação de testes não-invasivos com um custo menor que possam vir a contribuir para o diagnóstico ou exclusão dos distúrbios citados anteriormente. Dentre estes, os ensaios para a detecção de D-dímero vêm sendo utilizados em muitos laboratórios para a investigação dos distúrbios associados com a ativação do sistema fibrinolítico.

D-DÍMERO

Durante a formação de um trombo, os polímeros da fibrina são degradados pela plasmina e passam a dar origem a produtos de degradação de diferentes pesos moleculares. O menor e melhor caracterizado destes produtos é o D-dímero, sendo este constituído por duas subunidades idênticas derivadas de duas moléculas de fibrina^{2,3}. Apresenta uma meia-vida de aproximadamente 8 horas, com depuração e excreção urinária pela ação do sistema retículoendotelial⁴.

Embora baixos níveis de D-dímero possam ser detectados

Recebido em 27/08/2004
Aprovado em 08/11/2004

¹ Serviço de Hematologia Clínica e Transplante de Medula Óssea, Centro de Pesquisa, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

na circulação de indivíduos saudáveis, seus níveis aumentam significativamente nos pacientes com trombose venosa profunda⁵⁻⁸, embolia pulmonar⁹⁻¹³, coagulação intravascular disseminada⁶, infarto do miocárdio¹⁴, câncer¹⁵, complicações da gravidez¹⁶, sepse¹⁷, entre outros. O D-dímero é reconhecido atualmente como o mais específico marcador para trombose e fibrinólise fisiológica². Apresenta uma alta sensibilidade para o diagnóstico de TVP e EP mas não é específico para estes distúrbios. A sua principal aplicação clínica diz respeito à possibilidade de exclusão diagnóstica de eventos tromboembólicos quando os seus resultados são normais, ou seja, inferiores a 500 ng/mL. Devido à sua baixa especificidade, a dosagem do D-dímero apresenta pouca ou nenhuma utilidade na distinção entre os pacientes com trombose daqueles pacientes sem trombose se eles apresentarem idade superior a 60 anos ou hospitalização por um período maior que 3 dias ou, ainda, apresentarem elevados níveis de proteína-C reativa¹⁸.

TÉCNICAS PARA A MENSURAÇÃO DOS NÍVEIS DE D-DÍMERO

Quanto às técnicas para a mensuração dos níveis de D-dímero, o método de ELISA ainda continua sendo considerado o padrão-ouro. Um dos únicos aspectos negativos referentes a esta técnica ocorre em relação ao longo tempo de reação necessário. Em virtude disso, outras técnicas que demandam um menor tempo de ensaio vêm sendo desenvolvidas e testadas, demonstrando serem eficazes para a exclusão diagnóstica de eventos tromboembólicos, incluindo algumas técnicas automatizadas baseadas em imunoturbidimetria¹²⁻¹⁹. As técnicas de aglutinação em látex realizadas em placas vêm sendo gradativamente substituídas pelas técnicas automatizadas, uma vez que estas eliminam vários interferentes presentes nas técnicas manuais. As tabelas 1 e 2 abordam as metodologias disponíveis para a mensuração dos níveis de D-dímero bem como as suas respectivas características.

TABELA I
Metodologias disponíveis para a mensuração do D-dímero.

Ensaio	Nomes comerciais	Metodologias	Características	Referências
ELISA	Dimertest		Quantitativo e reprodutível, mas o tempo de ensaio limita o seu uso em serviços de emergência.	Crippa <i>et al.</i> (1997) ²¹
Látex	Asserachrom	Agglutinação em látex.	Alta sensibilidade, baixa especificidade.	Ginsberg <i>et al.</i> (1995) ²²
	Fibrinostika FbDP D-Dimer micco Dimertest I		Baixa sensibilidade, baixo valor preditivo negativo se comparado com ELISA.	Laaban <i>et al.</i> (1997) ²³ Duet <i>et al.</i> (1998) ²⁴
	D-dimerest Minutex D-dimer FDP-Silidex direct	-	-	-
SimpliRED D-dimer	SimpliRED D-dimer	Utiliza anticorpos específicos contra D-dímeros e eritrócitos.	Bom variabilidade interobservador. Mais rápido e fácil do que ensaios que utilizam ELISA ou látex.	Mauron <i>et al.</i> (1998) ²⁴ Turksta <i>et al.</i> (1998) ²⁵
Imunofiltração	NycoCard D-dimer	Emprega anticorpos monoclonais que reagem diretamente contra D-dímeros.	Fácil de interpretar, rápido e simples.	Dale <i>et al.</i> (1994) ²⁶
Imunoturbidimetria	Liatest D-dimer	Utiliza micropartículas de látex revestidas com anticorpos anti-D-dímeros.	Rápido e totalmente automatizado com boa concordância com os resultados obtidos por ELISA.	Barni <i>et al.</i> (1999) ²⁷

Adaptado de Mavromatis *et al.* (2001) 20 com modificações.

Tabela II
Características das diferentes técnicas para detecção de D-dímero.

Técnicas	Exemplos	Sensibilidade	Especificidade	Comentários
ELISA em microplaca	Asserachrom Ddi e Fibrinostika FbDP	Alta	Baixa	Considerada o padrão-ouro; adequada para análise em sériemas não conveniente devido ao longo tempo do ensaio.
ELISA	VIDAS ELISA	Alta	Baixa	Sensibilidade similar ao ELISAClássico em microplacas, sendo umensaio quantitativo.
Imunofiltração	NycoCard e Instant IA	Alta	Baixa a intermediária	Rápida; sensibilidade comparável ao ELISA em microplacas; qualitativo ou semiquantitativo.
Agglutinação em látex de primeira geração	Dimertest e D-Dimertest	Intermediária	Intermediária	Rápida, mas insuficientemente sensível para uso clínico.
Agglutinação com sangue total	SimpliRED	Geralmente alta, masintermediária em alguns estudos	Intermediária	Rápida, pode ser realizada nosangue total, sendo qualitativa ousemiquantitativa.
Agglutinação em látex de segunda geração (imunoturbidimetria)	TinaQuant e Liatest	Alta	Intermediária	Rápida; sensibilidade comparável ao ELISA em microplacas;

Adaptado de Kelly J *et al.* (2002)3 com modificações.

D-DÍMERO NA EXCLUSÃO DIAGNÓSTICA DE EP E TVP

Os níveis de D-dímero aumentam significativamente nos pacientes com eventos tromboembólicos, especialmente nos casos de EP e TVP. Com isso, vários autores vêm desenvolvendo estudos que demonstrem a aplicação diagnóstica do D-dímero nestes distúrbios. Entretanto, é importante salientar que níveis elevados de D-dímero não confirmam o diagnóstico de EP e nem de TVP, servindo como um teste de triagem antecedente a outros métodos utilizados na investigação clínica, incluindo alguns testes invasivos. A principal aplicação clínica do D-dímero está na exclusão diagnóstica de EP e TVP quando os seus níveis estão normais, ou seja, inferiores a 500 ng/mL. O valor preditivo negativo (VPN) deste teste é muito elevado para EP e TVP, o que confirma a capacidade que este teste tem de excluir o diagnóstico destes distúrbios quando os seus valores estão normais. A tabela 3 apresenta alguns estudos demonstrando a eficácia do D-dímero na exclusão diagnóstica de EP e TVP.

TABELA III
Aplicação do D-dímero para a exclusão diagnóstica de TVP e EP.

Distúrbio	Número de pacientes	VPN	Referência
TVP	445	99,4%	Keaton <i>et al.</i> 2001 ⁵
TVP	468	93,3%	Kovacs <i>et al.</i> 2001 ⁷
TVP	100	87,1%	Bucek <i>et al.</i> 2001 ²⁸
EP	525	98,3%	Kovacs <i>et al.</i> 2001 ⁷
EP	196	99%	Perrier <i>et al.</i> 1997 ¹⁰
EP	87	96%	Duet <i>et al.</i> 1998 ¹²
EP	171	92%	Bounameux <i>et al.</i> 1991 ¹³

Os valores apresentados na tabela acima no estudo realizado por Kovacs *et al.* (2001)⁷ estão expressos como a média de três métodos diferentes de determinação de D-dímero avaliados pelos respectivos autores.

CONCLUSÕES

O D-dímero constitui atualmente um importante instrumento complementar para a avaliação clínica de pacientes suspeitos de apresentarem distúrbios tromboembólicos, especialmente EP e TVP, uma vez que os índices de mortalidade decorrentes destes distúrbios são elevados. Entretanto, é importante reforçar que a principal aplicação do D-dímero está na exclusão diagnóstica de EP e TVP quando os seus valores estiverem dentro da faixa de normalidade. Outro aspecto relevante diz respeito à técnica laboratorial empregada para a detecção do D-dímero. Ensaios de aglutinação manual em látex requerem uma minuciosa atenção na interpretação dos resultados, uma vez que podem ocorrer variações interobservadores, além das variações das condições de análise, incluindo as variações de temperatura. Os ensaios automatizados devem ser destacados devido à padronização de suas condições analíticas bem como a eliminação das variações interobservadores eventualmente observadas na interpretação de técnicas manuais de aglutinação em látex. A técnica de ELISA ainda continua sendo considerada padrão-ouro para a determinação do D-dímero, embora outras técnicas mais recentes, destacando a técnica de imunoturbidimetria, venham sendo amplamente utilizadas, apresentando uma excelente associação entre os seus resultados e os obtidos por ELISA, além de serem realizadas em um menor período analítico. Considerando as informações referentes às técnicas de mensuração e ao seu alto valor preditivo negativo, o D-dímero constitui um importante aliado dos clínicos para a investigação dos distúrbios tromboembólicos.

REFERÊNCIAS

1. McClatchey KD. Clinical Laboratory Medicine. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994.
2. Rowe CA, Bolitho JS, Jane A, Bundesen PG, Rylatt DB, Eisenberg PR, Ligler FS. Rapid detection of D-dimer using a fiber optic biosensor. *Thromb Haemost* 1998; 79:94-8.
3. Kelly J, Rudd A, Lewis RR, Hunt BJ. Plasma D-dimers in the diagnosis of venous thromboembolism. *Arch Intern Med* 2002; 162:747-56.
4. Hager K, Platt D. Fibrin degradation product concentration (D-dimers) in the course of ageing. *Gerontology* 1995; 41:159-65.
5. Kearon C, Ginsberg JS, Douketis J, Crowther M, Brill-Edwards P, Weitz JI, Hirsh J. Management of suspected deep venous thrombosis in outpatients by using clinical assessment and D-dimer testing. *Ann Intern Med* 2001; 135:108-11.
6. Wilde JT, Kitchen S, Kinsey S, Greaves M, Preston FE. Plasma D-dimer levels and their relationship to serum fibrinogen/fibrin degradation products in hypercoagulable states. *Brit J Haem* 1989; 71:65-70.
7. Kovacs MJ, MacKinnon KM, Anderson D, O'Rourke, Keeney M, Kearon C, Ginsberg J, Wells PS. A comparison of three rapid D-dimer methods for the diagnosis of venous thromboembolism. *Brit J Haem* 2001; 115:140-44.
8. Escoffre-Barbe M, Oger E, Leroyer C, Grimaux M, Le Moigne E, Nonent M, Bressollette L, Abgrall JF, Soria C, Amiral J, III P, Clavier J, Mottier D. Evaluation of a new rapid D-dimer assay for clinically suspected deep venous thrombosis (Liatest D-dimer). *Am J Clin Pathol* 1998; 109:748-53.
9. Flores J, Lancha C, Rodriguez EP, Avello AG, Bollo E, Frade LJG. Efficacy of D-dimer and total fibrin degradation products evaluation in suspected pulmonary embolism. *Respiration* 1995; 62: 258-62.

10. Perrier A, Desmarais S, Goehring C, de Moerloose P, Morabia A, Unger PF, Slosman D, Junod A, Bounameaux H. D-dimer testing for suspected pulmonary embolism in outpatients. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:492-96.
11. Oger E, Leroyer C, Bressollette L, Nonent M, Le Moigne E, Bizais Y, Amiral J, Grimaux M, Clavier J, III P, Abgrall JF, Mottier D. Evaluation of a new, rapid and quantitative D-dimer test in patients with suspected pulmonary embolism. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:65-70.
12. Duet M, Benelhadj S, Kedra W, Vilain D, Ajzenberg C, Elkharrat D, Drouet L, Soria C, Mundler O. A new quantitative D-dimer assay appropriate in emergency: reliability of the assay for pulmonary embolism exclusion diagnosis. *Thromb Res* 1998; 91:1-5.
13. Bounameaux H, Cirafici P, de Moerloose P, Schneider PA, Slosman D, Reber G, Unger PF. Measurement of D-dimer in plasma as diagnostic aid in suspected pulmonary embolism. *Lancet* 1991; 337:196-200.
14. Francis CW, Connaghan DG, Marder VJ. Assessment of fibrin degradation products during fibrinolytic therapy for acute myocardial infarction. *Circulation* 1986; 74:1027-36.
15. Gabazza EC, Taguchi O, Yamakami T, Machisi M, Ibata H, Tsutsui K, Suzuki S. Coagulation fibrinolysis system and markers of collagen metabolism in lung cancer. *Cancer* 1992; 70:2631-36.
16. Trofater KF, Howell MC, Greenberg CS, Hage ML. Use of the fibrin D-dimer in screening for coagulation abnormalities in pre-eclampsia. *Obstet Gynecol* 1989; 73:435-39.
17. Deitcher SR, Eisenberg PR. Elevated concentrations of cross-linked fibrin degradation products in plasma: an early marker of Gram-negative bacteremia. *Chest* 1993; 103:1107-12.
18. Caprini JA, Glase CJ, Anderson CB, Hathaway K. Laboratory markers in the diagnosis of venous thromboembolism. *Circulation* 2004; 109[suppl]:I-4-I-8.
19. Moresco RN, Vargas LCR, Voegeli CF, Santos RCV. D-dimer and its relationship to fibrinogen/fibrin degradation products (FDPs) in disorders associated with activation of coagulation or fibrinolytic systems. *J Clin Lab Anal* 2003; 17:77-79.
20. Mavromatis BH, Kessler CM. D-dimer testing: the role of the clinical laboratory in the diagnosis of pulmonary embolism. *J Clin Pathol* 2001; 54:664-68.
21. Crippa L, D'Angelo SV, Tomassini L, et al. The utility and cost-effectiveness of D-dimer measurements in the diagnosis of deep vein thrombosis. *Haematologica* 1997; 82:446-51.
22. Ginsberg JS, Wells PS, Brill-Edwards P, et al. Application of a novel and rapid whole blood assay for D-dimer in patients with clinically suspected pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 1995; 73:35-8.
23. Laaban JP, Achkar A, Horellou MH, et al. Value of plasma D-dimer assays in the diagnosis of venous thromboembolism. *Rev Mal Respir* 1997; 14:119-27.
24. Mauron T, Baumgartener I, S'Brun A, et al. SimpliRED D-dimer assay: comparability of capillary and citrated venous whole blood, between-assay variability, and performance of the test for exclusion of deep venous thrombosis in symptomatic outpatients. *Thromb Haemost* 1998; 79:1217-19.
25. Turkstra F, Kuijter PMM, van Beek EJR, et al. Diagnostic utility of ultrasonography of leg veins in patients suspected of having pulmonary embolism. *Ann Intern Med* 1997; 126:775-81.
26. Dale S, Gogstad GO, Brosstad F, et al. Comparison of three D-dimer assays for the diagnosis of DVT: ELISA, latex and immunofiltration assay. *Thromb Haemost* 1994; 71:270-74.
27. Barro C, Bosson JL, Pernod G, Carpentier PH, Polack B. Plasma D-dimers: comparison of ELISA with a new, rapid, quantitative latex assay. *Clin Lab Haem* 1999; 21:363-64.
28. Bucek RA, Quehenberger P, Feliks I, Handler S, Reiter M, Minar E. Results of a new rapid D-dimer assay (Cardiac D-dimer) in the diagnosis of deep vein thrombosis. *Thromb Res* 2001; 103:17-23.

Endereço para correspondência:

Rafael Noal Moresco,

Rua Marquês do Maricá 494, Vila Nova, Porto Alegre, RS, 91750-460, Brasil.

E-mail: rnmoresco@yahoo.com.br

Valor Diagnóstico da Determinação da Atividade da Adenosina Deaminase no Derrame Pleural Tuberculoso em Indivíduos Infectados e não Infectados pelo HIV

Diagnostic Value of Adenosine Deaminase Determination in Tuberculous Pleural Effusion in HIV + and HIV - Patients

Andreza Fabro de Bem¹, Camille Salvany Caputi², Fabiane Bandeira Meireles³,
Artur Pizolatto Vargas³, Mariéli da Silva Carlotto³ & Izabel Cristina Huber¹

RESUMO - Objetivo: Avaliar a real utilidade da determinação da atividade da Adenosina Deaminase no fluido pleural (ADA-FP) em relação ao diagnóstico de tuberculose pleural (TB pl) com especial atenção à coinfeção com HIV. Métodos: Um protocolo retrospectivo foi realizado através da investigação de prontuários de 40 pacientes do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) entre janeiro de 2002 e janeiro de 2004. A condição necessária para incluir estes indivíduos no estudo foi a presença da determinação da atividade da ADA-FP e a pesquisa sorológica do HIV. Os pacientes foram separados em quatro grupos distintos - grupo I : TB+ e HIV+; grupo II: TB+ e HIV-; grupo III: TB- e HIV+; grupo IV: TB- e HIV-. Entre os 40 indivíduos avaliados, 16 apresentaram TB pl, sendo que 37,5% destes também apresentaram HIV infecção; o derrame pleural nos outros 24 indivíduos foi ocasionado por outras patologias. A atividade de ADA foi determinada por método colorimétrico descrito por GIUSTI, 1983. Resultados: Os valores médios (\pm E.P.) da atividade da ADA-FP foram 78.4 (25), 76.9 (15.8), 25.0 (13.3) e 16.0 (3.1) U/L para os grupos I, II, III e IV, respectivamente. Quando a infecção pelo HIV não foi considerada na análise estatística, a atividade de ADA foi significativamente maior nos indivíduos tuberculosos do que nos pacientes com derrame pleural de outras etiologias. Utilizando 60U/L como ponto de corte, a sensibilidade e a especificidade foram de 69,5%, 91,6% respectivamente. O valor preditivo positivo (VPP) foi de 89% enquanto valor preditivo negativo (VPN) foi 80%. Conclusão: A utilização da dosagem da atividade de ADA FP como marcador bioquímico demonstrou ter grande valor no diagnóstico da TB pl. Além disso, o valor diagnóstico da ADA FP é independente da sorologia para HIV.

PALAVRAS CHAVES - adenosina deaminase, tuberculose pleural, Vírus da imunodeficiência humana

SUMMARY - Objectives: To evaluate the real utility of the determination of pleural fluid adenosine deaminase (ADA-PF) activity in pleural tuberculosis diagnostic (TB pl), with special attention to the HIV coinfection. Methods: A retrospective protocol was performed by analyzing medical records of 40 patients from the Santa Maria University Hospital (SMUH), between January 2002 and January 2004. The necessary condition to include these individuals in the study was to present ADA-PF activity and HIV serologic research. Patients were divided in four different groups - group I : TB+ e HIV+; group II: TB+ e HIV-; group III: TB- e HIV+; group IV: TB- e HIV-. Among the 40 patients, 16 presented TB pl. It is important to state that, among this 16 patients, 37,5% also presented HIV infection. On the other 24 patients, the pleural effusion was occasioned by other etiologies. The analysis of ADA-PF was measured based on Giusti's colorimetric method. Results: The mean (\pm S.E.) values of ADA-PF activities were 78.4 (25), 76.9 (15.8), 25.0 (13.3), and 16.0 (3.1) U/L for groups I, II, III, and IV, respectively. When HIV infection was not considered in the statistical analysis, the ADA-PF activity was significantly higher in tuberculosis patients when compared to patients with pleural effusion caused by other etiologies. Using a cut off value of 60 U/L, the found sensibility and specificity were 69,5% and 91,6%, respectively. The calculated Positive Predictive Value (PPV) was 89% and the Negative Predictive Value (NPV) was 80%. Conclusion: The measurement of ADA-PF activity represent an useful tool in the diagnostic of TB pl. In addition, the diagnostic value of ADA-PF seems to be independent on HIV serologic status.

KEYWORDS - Adenosine deaminase, Pleural tuberculosis, Human immunodeficiency virus

INTRODUÇÃO

A incidência global de tuberculose (TB) tem aumentado, particularmente, nas áreas onde a infecção pelo vírus HIV e TB são prevalentes. A tuberculose pulmonar tem sido mais frequentemente observada em pacientes infectados com HIV do que em pacientes que não apresentam essa infecção (FESTENTEIN & GRANGE, 1991; RIAN-TAWAN *et al.*, 1999). No Brasil, desde 1980, a média anual de casos de TB notificados é de 82.000, segundo o Ministério da Saúde, o que nos mostra ser esta doença, ainda hoje, um grave problema de saúde pública em nosso país. (<http://portal.saude.gov.br/saude>).

A infecção por micobactérias afeta pacientes de qualquer idade, sexo ou grupo étnico e, não sendo tratada oportunamente, pode ser fatal ou trazer consigo um alto risco de se-

qüelas graves, principalmente nos casos em que a terapia seja retardada ou inadequada (VIAMONT, 1992).

O diagnóstico da tuberculose é frequentemente difícil. Têm-se utilizado vários métodos diagnósticos laboratoriais, muitos dos quais são pouco sensíveis ou carecem de utilidade na conduta clínica. Em geral, os exames laboratoriais de rotina, devido a pouca sensibilidade e inespecificidade e demora nos resultados, são pouco conclusivos no diagnóstico da doença (LEONARD & DES-PREZ, 1990).

Atualmente, o diagnóstico de micobacterioses em todas as suas formas, é estabelecido utilizando-se a coloração de Ziehl-Neelsen e o cultivo, que não diferem muito daquelas que Robert Koch utilizou. O exame direto, utilizando a coloração de Ziehl-Neelsen, é extremamente importante, porque quando positivo, permite o início imediato do tratamento, tem baixo custo, facilidade de execução e rapidez.

Recebido em 28/06/2004

Aprovado em 27/09/2004

¹ Professora de Bioquímica Clínica. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas; ²Farmacêutica-bioquímica, aluna do Curso de Especialização em Laboratório Clínico; ³Alunos do Curso de Farmácia e Bioquímica - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

é o espectrofotômetro, fotômetro de linha-espectral ou fotômetro simples (com lâmpada de tungstênio e filtro)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da eficiência de teste diagnósticos alternativos é comparada em referência ao melhor padrão avaliável, chamado de "padrão ouro". No caso de Tuberculose Pleural e outras formas de infecção pelo *M. tuberculosis*, a cultura e a biópsia, consideradas padrão ouro, apresentam limitações quanto a sensibilidade e ao tempo necessário para determinar a etiologia do quadro (VILLEGAS *et al.*, 2000). A incidência de formas pulmonares e extra-pulmonares de TB em países desenvolvidos ou em desenvolvimento, aumenta constantemente, em conseqüência da epidemia da AIDS. (PITCHENIK, *et al.*, 1984; SUNDERAM *et al.*, 1986). A necessidade de reconhecer precocemente as causas do derrame pleural incentivam o uso de marcadores bioquímicos como a ADA.

O valor diagnóstico da adenosina deaminase no fluido pleural (ADA-FP) como marcador bioquímico da TB pleural foi avaliado, particularmente em relação à co-infecção com o HIV. O ponto de corte utilizado neste estudo foi de (60U/L), similar a outros trabalhos que avaliaram os níveis de ADA no diagnóstico diferencial de TB pleural (OLIVEIRA *et al.*, 1991; RIANTAWAN *et al.*, 1999).

Durante o período do estudo, um total de 40 prontuários de pacientes do HUSM com determinação simultânea de ADA e sorologia para HIV, foram investigados. De acordo com os dados representados na Tabela I, dos 16 pacientes com derrame pleural tuberculoso - Grupos I e II (média de idade 37,5 anos) 12 eram homens e 4 mulheres. A média de idade dos indivíduos HIV+ - Grupos I e III, foi de 31,4 anos, (5 indivíduos do sexo masculino e 5 do sexo feminino), sendo portanto, menor que a média de idade dos indivíduos não infectados pelo HIV (média de 52,9 anos).

Tabela I - Características dos pacientes por grupo

Características dos pacientes	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
Nº de pacientes	6	10	4	20
Idade (média)	27,5	43,6	37,2	57,5
Razão masc/fem	4/2	8/2	1/3	10/10
ADA-FP (U/L)	78,4	76,9	25	14,0

Os valores médios para a atividade da ADA-FP foram determinados para cada grupo. O grupo de pacientes com TB pleural apresentou os mais altos níveis de ADA, com valores médios de 77,6U/L (E.P.=12,9). A atividade da ADA foi significativamente maior nos indivíduos tuberculosos do que nos pacientes com derrame pleural de outras etiologias, média 18,1U/L (E.P.=3,3), ($p<0,05$) (Fig. 01). Utilizando 60U/L como ponto de corte, o qual foi mais apropriado em nosso estudo, a sensibilidade do teste foi de 69,5%, especificidade de 91,6, valor preditivo positivo (VPP) de 89%, valor preditivo negativo (VPN) 76% e eficiência do método de 80%. GOTO *et al.*, (2003) pesquisaram 40 artigos entre 1966 e 1999 sobre a performance da ADA-FP e observaram que a sensibilidade e a especificidade estiveram entre 47,1 e 100% e 50 a 100% respectivamente, validando, portanto os resultados apresentados em nosso estudo. GORGUNER *et al.*, (2000) determinou a atividade da ADA em 87 amostras de líquido pleural, obtendo 91 e 89% de sensibilidade

e especificidade, respectivamente no diagnóstico da Tuberculose. REECHAIPICHITKUL *et al.*, (2001) em um estudo com 132 pacientes; GHELANI *et al.*, (1999) em 81 pacientes e MARDANIAN *et al.*, (2002), com 69 pacientes concluíram que a determinação dos níveis de ADA na efusão pleural foi extremamente útil como teste diagnóstico no derrame pleural de origem tuberculosa.

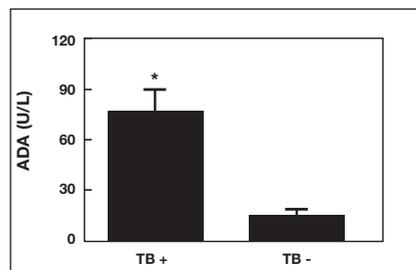


Figura 1 - Atividade da Adenosina Deaminase no fluido pleural (ADA-FP; U/L) de indivíduos com derrame pleural de origem tuberculosa (TB+) e não tuberculosa (TB-). Todos os valores são expressos como a média e erro padrão. (*) demonstra diferença significativa entre os grupos ($p<0,05$).

A atividade da ADA-FP nos indivíduos com derrame pleural de origem não tuberculosa, não difere estatisticamente entre pacientes infectados e não infectados pelo HIV. Todavia, esta atividade encontra-se significativamente aumentada no derrame pleural tuberculoso, não havendo também diferença significativa entre os indivíduos HIV+ e HIV- (Fig 2). Estes dados corroboram com os trabalhos de RIANTAWAN, 1999 em TB pleural e SATHAR, (1999), em indivíduos com TB peritonial, os quais demonstraram não haver diferença significativa na atividade da ADA entre indivíduos soro-positivos e soro-negativos. RICHTER *et al.*, (1994), observou que em estudo realizado com 118 pacientes com efusão pleural, a ADA demonstrou ser importante marcador no diagnóstico de TB pleural, independentemente da infecção pelo HIV. Portanto, o valor diagnóstico da ADA na avaliação das causas do derrame pleural não é prejudicado pela presença da co-infecção TB/HIV.

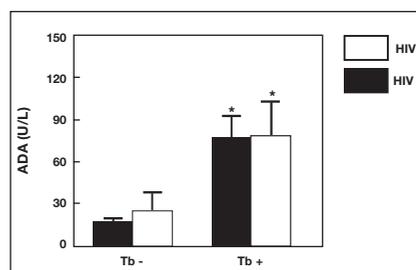


Figura 2 - Atividade da Adenosina Deaminase no fluido pleural (ADA-FP; U/L) de indivíduos com derrame pleural de origem tuberculosa (TB+) e não tuberculosa (TB-) relacionada com a presença ou a ausência de co-infecção pelo HIV. Todos os valores são expressos como a média e erro padrão. (*) demonstra diferença significativa entre os grupos ($p<0,05$).

Poucos estudos relacionam o valor diagnóstico da ADA em pacientes imunocomprometidos. Em um trabalho de HSU *et al.*, 1993, a sensibilidade da ADA-FP em 10 hospedeiros imunocomprometidos, foi de apenas 40% utilizando ponto de corte de 80U/L, demonstrando, desta forma, pouca utilidade da ADA como teste auxiliar no diagnóstico da TB em indivíduos infectados pelo HIV. Em contraste, nossos

resultados produziram maior sensibilidade e especificidade, utilizando um ponto de corte de 60U/L.

A especificidade e sensibilidade da ADA dependem da prevalência de tuberculose na população analisada (VALDES *et al.*, 1995). Por este motivo, e também pelo fato de ainda não haver um consenso sobre os valores de referência para os níveis de ADA, a validação do ponto de corte deve ser realizada em cada centro de diagnóstico, levando em consideração outros parâmetros clínicos e laboratoriais. Inúmeros trabalhos confirmam a grande utilidade da ADA como ferramenta auxiliar no diagnóstico de TB, mas poucos são os que relacionam o seu valor no caso de pacientes infectados por HIV. Neste estudo constatamos que o nível médio de ADA encontrado no grupo de pacientes HIV positivo e HIV negativo não foi diferente, apesar de o HIV deprimir o sistema imune e a ADA ser sintetizada nos linfócitos T do derrame pleural. Portanto, o presente estudo pode concluir que o valor discriminativo utilizado como referência na dosagem de ADA não precisa ser modificado quando o paciente for portador do HIV, pois esta condição não demonstrou interferir significativamente. Também é importante lembrar que para obter o máximo de utilidade dos métodos alternativos de diagnóstico, deve-se interpretar os níveis de ADA juntamente com todo o contexto de exames laboratoriais e características clínicas dos pacientes.

Considerando que, no Brasil, a prevalência da tuberculose pleural, é elevada, principalmente nos pacientes com SIDA e que freqüentes dificuldades são encontradas no estabelecimento do diagnóstico diferencial desta enfermidade, a determinação da atividade da ADA demonstra ser um método rápido e acurado na sugestão do diagnóstico de tuberculose pleural, constituindo um recurso diagnóstico de grande valor. A simplicidade técnica da determinação dos níveis de ADA, assim como seu baixo custo, permite a implantação da mesma em laboratórios de grande e pequeno porte, implementando, desta forma, o diagnóstico do derrame pleural tuberculoso.

REFERÊNCIAS

1. ABANTO, M.H.. Identificação rápida de Mycobacterium sp. a partir de amostras clínicas, 1996. Tese (Doutorado da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 1996.)
2. ALVES, S.H.; MARCHIORI, R.; HUBER, I.C.; *et al.* Principais metodologias para o diagnóstico laboratorial da tuberculose: A importância da enzima Adenosina deaminase (ADA). Laes & Haes Ago/Set, 1994.
3. BECK, S.T. Padronização e desenvolvimento de Testes Sorológicos para o Diagnóstico da Tuberculose Humana, 2003. Tese (Doutorado da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2003)
4. BETHLEM, N. SIDA – AIDS e tuberculose no Brasil. Arq Bras Med., São Paulo, v.64, 1992.
5. BLAKE, J.; BERMAN P. The use of adenosine deaminase assays in the diagnosis of tuberculosis. S Afr Med J. v.62: p.19-21, 1982
6. BOOM, R.; SOL, C.J.; SALIMANS, M.; *et al.* Rapid and simple method for purification of nucleic acid. J. Clin. Microbiol., Washington, v.28, 1991.
7. Casos confirmados, segundo o período de diagnóstico e local de residência, por UF, Brasil, 1980-2001. Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) – Ministério da Saúde. Disponível em: <<http://Portal.saude.gov.br/saude>>. Link: Secretaria de Vigilância em Saúde>. Acesso em 29 fev.2004.
8. DANIEL, T. M. The rapid diagnosis of tuberculosis: a selective review. J.Lab. Clin. Med., St. Louis, v.116, 1990.
9. DANIEL, T.M.; BEBANNE, S.M. The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by enzyme-linked immunosorbent assay. Am.Rev. Respir. Dis., New York, v.135, 1987.
10. FERREIRA, A.W.; ÁVILA, S.L.M. Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-imunes. 2. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. Cap 20, p.224-5.
11. FESTENTEIN, F.; GRANGE, J.M. Tuberculosis and the acquired immune deficiency syndrome. J.Appl.Bacteriol., Oxford, v.71, 1991.
12. GHELANI, D.R.; PARIKH, F.S.; HAKIM A.S.; *et al.* Diagnostic significance of immunoglobulins and adenosine deaminase in pleural effusion. Assoc. Physicians India, 47(8): p. 787-90, 1999.
13. GIUSTI, G.; GALANTI, B. Adenosine deaminase. In: BERGMAYER, H.U., ed

– Methods of Enzymatic Analysis, 3rd. New York : Academic Press, 1983.

14. GORGUNER, M.; CERCI, M.; GORGUNER, I. Determination of adenosine deaminase activity and its isoenzymes for diagnosis of pleural effusions. Respirology, 5(4): p. 321-4, 2000.
15. GOTO, M.; NOGUCHI, Y.; KOYAMA, H.; *et al.* Diagnostic value of adenosine deaminase in tuberculous pleural effusion: a meta-analysis. Ann. Clin. Biochem. 40 (Pt4): p.374-81, Jul/2003.
16. HSU, W.H.; CHIANG, C.D.; HUANG, P.L. Diagnostic value of pleural adenosine deaminase in tuberculous effusions of immunocompromised hosts. J. Formos Med. Assoc. 92 (7) : p.668-70, Jul/1993.
17. LEONARD, J.M.; DES-PREZ, R.M. Tuberculous meningitis. Infect.Dis.Clin.North Am., Washington, v.4, 1990.
18. MALAN, C.; DONALD, P.R.; GOLDEN, M.; *et al.* Adenosine deaminase level in cerebrospinal fluid in the diagnosis of tuberculous meningitis. J. Trop. Med. Hyg.87, 1984.
19. MARDANIAN, S.S.; SARKISOVA, E.G.; ANDREASIAN, N.A.; *et al.* Activity of pleural fluid adenosine deaminase in tuberculous pleurisy. Probl Tuberk, (2): p.37-9, 2002.
20. MARITZ, F.J.; MALAN, C.; LE ROUX, I. Adenosine deaminase estimations in the differentiation of pleural effusion. S Afr Med J, 62: p.556-58, 1982.
21. MARTINEZ-VASQUEZ, J.M.; RIBERA, E.; OCAÑA, I.; *et al.* Adenosine deaminase activity in tuberculous pericarditis. Thorax 41, 1986.
22. OCAÑA, I.; MARTINEZ-VASQUEZ, J.M.; SEGURA, R.M.; *et al.* Adenosine deaminase in pleural fluids. Test for diagnosis of tuberculosis pleural effusions. Chest 84, 1983.
23. OLIVERA, H. G. – Auxílio diagnóstico da Adenosina deaminase (ADA) no derrame pleural. Porto Alegre, 1989. Tese (Mestrado da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1989).
24. OLIVEIRA, H.G.; PROLLA, J.C.; MARTINS, S.A.G.; *et al.* Adenosina deaminase na rotina laboratorial de investigação do derrame pleural no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. HCPA, 11: p.5-9, 1991.
25. PETERSSON, T.; OJALA, K.; WEBBER, T. H.. Adenosine deaminase in the diagnosis of pleural effusions. Acta.Med.Scand, 1984.
26. PIRAS, M.A.; GAKIS, C.; BRUDOM, M.; ANDREO, M.G.. Adenosine deaminase activity in pleural effusion: and aid to differential diagnosis. Br Med J, 2: p.1751-52, 1978.
27. PITCHENIK, A.E.; COLE, C.; RUSSEL, V. W.; *et al.* Tuberculosis, atypical mycobacteriosis and the acquired immunodeficiency syndrome among Haitian and non-Haitian patients in South Florida. Ann Intern Med ,101: p.641-645, 1984.
28. REECHAIPICHITKUL, W.; KAWAMATAWONG, T.; TEERAJETGUL, Y.; *et al.* Diagnostic role of pleural fluid adenosine deaminase in tuberculous pleural effusion. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 32(2): p. 383-9, 2001.
29. REQUEJO, H.I. Tuberculose e outras Micobacterioses. NewsLab,ed.51, 2002.
30. RIANTAWAN, P.; CHAOVALIT, P.; WONGSANGIEM, M.; *et al.* Diagnostic value of fluid Adenosine deaminase in tuberculous pleuritis with reference to HIV coinfection and a Bayesian Analysis. Chest,116/1/july,1999.
31. RICHTER, C.; PERENBOOM, R.; SWAI, A.B.; *et al.* Diagnosis of tuberculosis in patients with pleural effusion in an area of HIV infection and limited diagnostic facilities. Trop. Geogr.Med, 46 (5): p.293-7, 1994.
32. RODRIGUES, L.E.A.; CRUZ FILHO, A.S.; SILVA, J.P.; *et al.* Métodos simples de determinação da atividade da adenosina deaminase (ADA) utilizado no diagnóstico rápido da tuberculose. LAES&HAES, [199-].
33. ROM, W.N.; ZHANG, Y. The rising tide of tuberculosis and the human host response to Mycobacterium tuberculosis. J. Lab. Clin.Med.,1993.
34. SATHAR, M.A.; UNGERE, J.P.; LOCKHAT, F.; *et al.* Elevated adenosine deaminase activity in patients with HIV and tuberculous peritonitis; Eur. J. Gastroenterol Hepatol. Mar; 11 (3) : p.337-41, 1999.
35. SUNDERAM, G.; McDONALD, R.J.; MANIATIS, T.; *et al.* Tuberculosis as a manifestation of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). JAMA, 256: p.362-366, 1986.
36. TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, F.; *et al.* Microbiologia. 3. ed. São Paulo : Atheneu,1999. Cap. 40: p.303-308 .
37. VALDES, L.; ALVAREZ, D.; SAN JOSE, E.; *et al.* Value of adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusion in young patients in a region of high prevalence of tuberculosis. Thorax, 50: p.600-603, 1995.
38. VIAMONT, A. Diagnóstico de meningite tuberculosa através de enzimoimunensaio (ELISA), utilizando PPD como antígeno. São Paulo,1992.Tese (Mestrado da Escola Paulista de Medicina, 1992).
39. VILLEGAS, M.V.; LABRADA, L.A.; SARAVIA, N.G. Evaluation of Polymerase Chain Reaction, Adenosine deaminase, and Interferon- γ in Pleural Fluid for the Differential Diagnosis of Pleural Tuberculosis. Chest, 118/5: p.1355-1364, 2000.
40. VOIGT, M.D.; KALVARIA, I.; TREY, C.; *et al.* Diagnostic value of ascites adenosine deaminase in tuberculous peritonitis. Lancet 1, 1989.

Endereço Correspondência:

Prof. Andrea Fabro de Bem
Centro de Ciências da Saúde
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
Universidade Federal de Santa Maria
Campus Universitário – Santa Maria – RS
CEP: 97119000

Micoses observadas em pacientes atendidos no Hospital Universitário, Florianópolis, Santa Catarina*

Mycoses observed in patients assisted at the University Hospital, Florianópolis, Santa Catarina

Moema Pfeilsticker Pereira Coelho¹, Beatriz Garcia Mendes², Helén Zocche Soprana², Lígia Fonseca Viana Santos³, Berenice Pagani Nappi⁴, Jairo Ivo dos Santos⁴

RESUMO - Neste trabalho foram avaliados aspectos epidemiológicos das micoses que acometem pacientes que foram atendidos no Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário de Florianópolis, e encaminhados para exame laboratorial, no período de agosto de 2001 a novembro de 2002. As micoses mais freqüentemente observadas foram dermatofitoses (22,1% dos casos), candidíase (19,0% dos casos) e Pitiríase versicolor (9,0% dos casos). *Trichophyton rubrum*, observado em 52,3% dos casos, foi o dermatófito mais prevalente, seguido pelo *Trichophyton mentagrophytes*, diagnosticado em 31,8% dos casos. *Tinea pedis* e *Tinea unguium* foram as formas clínicas mais freqüentes, com 38,6% e 35,2% dos casos, respectivamente. Pacientes do sexo masculino apresentaram freqüências de infecção por *T. rubrum* significativamente maiores que aqueles do sexo feminino ($p=0,0002$). Com relação a candidíase, os pacientes do sexo feminino apresentaram uma freqüência significativamente maior que pacientes do sexo masculino ($p=0,0048$). Com relação a *Pitiríase versicolor* verificou-se que esta micose foi mais freqüente em pacientes com idade inferior de 22 anos e do sexo masculino ($p=0,0031$). Estes resultados sugerem que existem características epidemiológicas peculiares a cada uma das principais micoses de importância na rotina dermatológica.

PALAVRAS-CHAVE - Micoses, dermatofitoses, candidíases, *Pitiríase versicolor*

SUMMARY - The objective of this work was to evaluate the epidemiological aspects of the mycoses that affect patients that were assisted at the Dermatology Service of University Hospital of Florianópolis, from August 2001 to November 2002. The most frequently mycoses observed were dermatophytoses (22,1% of the patients), candidiasis (19,0% of the patients) and Pityriasis versicolor (9,0% of the patients). *Trichophyton rubrum* accounted for 52,3% of the dermatophyte infections while *Trichophyton mentagrophytes* was diagnosed in 31,8% of the cases. The most frequent clinical forms observed were *tinea pedis*, in 38,6% of the cases, followed by *tinea unguium*, in 35,2% of the cases. Male patients presented higher infections by *T. rubrum* than female patients ($p=0,0002$). Relative to the candidiasis, female patients were more affected than the male patients ($p=0,0048$). Relative to the Pityriasis versicolor, this mycosis was more frequently observed in male patients and those younger than 22 years ($p=0,0031$). These results suggest that there are distinctive epidemiological characteristics among the main mycoses of importance in the dermatology routine.

KEYWORDS - Mycoses, dermatophytoses, candidiasis, Pityriasis versicolor

INTRODUÇÃO

As micoses apresentam grande interesse na prática médica pela freqüência com que acometem a população, assim como por simularem outras patologias, principalmente aquelas que afetam áreas expostas do corpo como a pele, dependendo, por isso, do laboratório para o seu diagnóstico definitivo¹.

As lesões decorrentes das infecções fúngicas manifestam-se, do ponto de vista clínico, nas mais diferentes formas, podendo ser classificadas de acordo com sua localização no organismo, em micoses superficiais e cutâneas, representadas principalmente pelas dermatofitoses e a *Pitiríase versicolor*; as subcutâneas como, por exemplo, a esporotricose e cromomicose, e profundas e sistêmicas como a paracoccidiodomicose e histoplasmose². Além disso, também são observadas micoses cujos agentes etiológicos são essencialmente oportunistas como é o caso da candidíase e a criptococose e de outras consideradas emergentes, devido a pouca freqüência com que seus agentes etiológicos são encontrados na rotina micológica³⁻⁵.

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar os aspectos epidemiológicos dos diferentes tipos de micoses, que acometeram os pacientes que utilizaram os

serviços do Hospital Universitário (HU) de Florianópolis, no período de agosto de 2001 a novembro de 2002.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras analisadas consistiram de espécimes clínicos colhidos de 399 pacientes com suspeita de micose, que foram atendidos pelo Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário (HU), da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, no período de agosto de 2001 a novembro de 2002. Estes pacientes foram encaminhados ao Laboratório de Micologia Clínica para os exames micológicos.

O material biológico colhido foi clarificado e examinado ao microscópio. Além disso, o material também foi semeado em tubos com Ágar Sabouraud dextrose, contendo cloranfenicol e cicloheximide, bem como em tubos sem inibidores. Os tubos foram incubados a 25°C, por pelo menos três semanas, com observações diárias a partir do terceiro dia de semeadura. Sua identificação foi feita com base nas características macromorfológicas e micromorfológicas das colônias que cresceram nos meios de cultura¹.

A significância estatística nas diferenças dos valores das freqüências encontradas foi avaliada pelo Teste exato de Fisher.

Recebido em 21/01/2004

Aprovado em 26/01/2004

*Trabalho desenvolvido no Laboratório de Micologia Clínica, Departamento de Análises Clínicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC
¹Farmacêutica-bioquímica, ²Graduandas em Farmácia, ³Técnica de Laboratório, ⁴Professores de Micologia Clínica, Departamento de Análises Clínicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC

RESULTADOS

Constatou-se que dos pacientes avaliados, 199 (49,9%) apresentaram resultado positivo para o exame micológico direto e/ou cultura, enquanto 200 (50,1%) tiveram resultado negativo. Com relação às suas características demográficas, observou-se uma frequência maior de pacientes do sexo feminino com faixa etária de 22 a 59 anos. Entretanto, os casos de micoses distribuíram-se de maneira similar nos dois sexos e em todas as faixas etárias (Tabela I). As micoses mais frequentemente diagnosticadas foram as dermatofitoses (22,1%), candidíase (19,0%) e Pitiríase versicolor (9,0%). Também foram diagnosticados um caso de onicomicose causado por *Scytalidium dimidiatum*, um caso de cromomicose, causado por *Fonsecaea pedrosoi*, e um caso de tinea negra, causado por *Exophiala werneckii*. Em vários pacientes foi observado mais de um tipo de micose.

Tabela I
Frequência das micoses de acordo com sexo e idade dos pacientes.

	Total	Com diagnóstico de micose
Sexo		
Feminino	259	127 (49,0%)
Masculino	140	72 (51,4%)
Idade*		
0-21 anos	55	27 (49,1%)
22-59 anos	275	139 (50,5%)
> 59 anos	43	23 (53,5%)

* 26 pacientes sem idade conhecida.

Em relação as dermatofitoses, as espécies mais frequentemente isoladas foram *Trichophyton rubrum* com 52,3% dos diagnósticos e *Trichophyton mentagrophytes* com 31,8% de frequência (Tabela II). No restante dos casos, os agentes etiológicos observados foram *Trichophyton violaceum* (4,5%), *Epidermophyton floccosum* (4,5%), *Trichophyton tonsurans* (2,3%), *Microsporum canis* (2,3%) e *Microsporum gypseum* (2,3%). Por outro lado, as formas clínicas mais frequentes foram tinea pedis em 38,6% dos casos e tinea unguium em 35,2% (Tabela II). Casos de tinea capitis (8,0%), tinea corporis (8,0%), tinea manum (6,8%), tinea cruris (2,3%) e tinea faciei (1,1%) também foram observados.

Tabela II
Distribuição percentual das formas clínicas dos casos de dermatofitoses, de acordo com a espécie de dermatófito.

Espécies de dermatófitos	Formas Clínicas (n= 88)							Total
	Tinea pedis	Tinea unguium	Tinea manuum	Tinea capitis	Tinea cruris	Tinea faciei	Tinea corporis	
<i>T. rubrum</i>	15	21	05	-	01	-	04	46 (52,3%)
<i>T. mentagrophyt</i>	16	09	-	-	01	-	02	28 (31,8%)
<i>T. tonsurans</i>	-	01	-	01	-	-	-	02 (2,3%)
<i>T. violaceum</i>	-	-	-	04	-	-	-	04 (4,5%)
<i>E. floccosum</i>	03	-	-	-	-	-	01	04 (4,5%)
<i>M. gypseum</i>	-	-	01	-	-	01	-	02 (2,3%)
<i>M. canis</i>	-	-	-	02	-	-	-	02 (2,3%)
Total	34 (38,6%)	31 (35,2%)	06 (6,8%)	07 (8,0%)	02 (2,3%)	01 (1,1%)	07 (8,0%)	88 (100%)

Quando se analisou o perfil demográfico dos pacientes acometidos de dermatofitoses constatou-se que pacientes do sexo masculino apresentaram frequências de infecção por *T. rubrum* significativamente maiores que aqueles do sexo feminino ($p=0,0002$), conforme é mostrado na Tabela III. Já com relação ao *T. mentagrophytes*, a diferença observada nas frequências entre os dois sexos não foi estatisticamente significativa.

Tabela III
Frequência das infecções por *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* de acordo com o sexo e a faixa etária dos pacientes.

	Total de pacientes examinados	<i>T. rubrum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>
Sexo			
Feminino	259	18 (6,9%)	22 (8,5%)
Masculino	140	28 (20,0%)	06 (4,3%)
Faixa etária (anos)*			
0-21	55	02 (3,6%)	02 (3,6%)
22 a 59	275	36 (13,1%)	21 (7,6%)
> 59	43	05 (11,6%)	02 (4,6%)

* 26 pacientes sem idade conhecida.

Com relação à infecção por *Candida sp.* o sítio anatômico mais afetado foi o tecido ungueal (94,7% dos casos). Os pacientes do sexo feminino apresentaram uma frequência de 23,2%, o que foi significativamente maior ($p=0,0048$) do que aquela observada para pacientes do sexo masculino (11,4%), conforme é mostrado na tabela IV. Com relação à faixa etária, os pacientes com idade acima de 59 anos apresentaram frequência de 32,6%, que foi superior a encontrada para a faixa de 22-59 anos (21,8%) e inferior para a faixa abaixo de 22 anos (3,6%).

Quando se analisou o perfil de pacientes acometidos por *Pitiríase versicolor* (*Malassezia sp.*) verificou-se que esta foi mais frequente no sexo masculino (15,0%) do que no sexo feminino (5,8%; $p=0,0031$), de acordo com a Tabela IV. Nessa micose, a faixa etária mais afetada foi aquela constituída por pacientes com idade inferior a 22 anos (18,2%), enquanto que para as faixas de 22-59 anos e superior a 59 anos as frequências foram menores, sendo respectivamente 8,7% e 4,6%. Os locais anatômicos mais afetados foram o tórax e face (63,9%).

Tabela IV
Frequência de candidíase e *Pitiríase versicolor*, de acordo com o sexo e a faixa etária dos pacientes, e local anatômico mais afetado.

	Candidíase (n=76)	Pitiríase versicolor (n= 36)
Sexo		
Feminino (n= 259)	60 (23,2%)	15 (5,8%)
Masculino (n= 140)	16 (11,4%)	21 (15,0%)
Faixa etária (anos)*		
0-21 (n= 55)	02 (3,6%)	10 (18,2%)
22 a 59 (n= 275)	60 (21,8%)	24 (8,7%)
> 59 (n= 43)	14 (32,6%)	02 (4,6%)
Local anatômico mais afetado	Unhas (94,7%)	Tronco e face (63,9%)

* 26 pacientes sem idade conhecida.

DISCUSSÃO

Sendo uma das finalidades do presente trabalho estabelecer a prevalência de micoses nos pacientes atendidos pelo serviço de dermatologia do Hospital Universitário, fez-se a pesquisa de fungos em material de todos os pacientes em que havia suspeita clínica de micose. Em metade destes não foi possível evidenciar infecção fúngica como causa etiológica das lesões. Isso indica que afecções presentes em muitas dermatoses de etiologias diferentes podem apresentar lesões semelhantes àquelas observadas em casos de infecções fúngicas verdadeiras. Entretanto, não se pode descartar a possibilidade de que alguns dos pacientes com resultado negativo para fungos tenham utilizado previamente medicamentos antifúngicos sem prescrição médica, o que poderia ter induzido resultados laboratoriais falso-negativos.

Neste estudo, foi possível caracterizar as espécies de dermatófitos em nosso meio, observando que o *T. rubrum* foi a espécie mais prevalente, e que as formas clínicas mais frequentes foram a tinea pedis e tinea unguium. Esse resultado é, de maneira geral, consistente com aqueles observados por diversos autores, em Florianópolis e outras regiões do Brasil⁶⁻⁹. Por outro lado, a frequência maior de infecção por dermatófito em pacientes do sexo masculino confirmou resultados encontrados em grupos semelhantes de pacientes em trabalho realizado há alguns anos⁸. Entretanto, não foi possível, até este momento, determinar a causa desta diferença de prevalências entre os dois sexos.

Entre os casos diagnosticados de tinea capitis, destaca-se aqueles causados por *T. violaceum*. Este dermatófito, que era isolado em São Paulo com muita frequência na década de 1940, principalmente em casos de tinea capitis, além de sítios anatómicos, teve a sua incidência diminuída no decorrer das décadas seguintes, estando hoje restrito às regiões litorâneas do Sul do Brasil, principalmente Santa Catarina e Rio Grande do Sul^{8,11,12}.

No que se refere à infecção por *Candida sp.*, os pacientes mais acometidos eram constituídos por pessoas adultas do sexo feminino e com localização das lesões predominantemente nas unhas. A alta frequência de localização ungueal observada para a infecção por *Candida* neste estudo é explicada pelo fato de que estes pacientes eram provenientes do Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário. Muitos deles referiram o fato de realizarem tarefas domésticas que demandavam um contato prolongado com água, enquanto que outros relatavam que sofriam de doenças endócrinas como diabetes mellitus, que propiciavam uma susceptibilidade maior dos mesmos à infecção por *Candida*, como já relatado por diversos autores¹³⁻¹⁷.

Em relação a *Pitiríase versicolor*, foi possível observar que a maioria dos casos ocorreu em pessoas do sexo masculino com menos de 21 anos. É conhecido o fato de que a maioria dos casos desta micose em adolescentes e adultos jovens é decorrente de alterações hormonais e aumento de secreção sebácea que ocorrem neste período da vida, propiciando uma maior susceptibilidade à infecção por *Malassezia sp.*^{18,19}. Também é de conhecimento geral que ela tem distribuição cosmopolita, ocorrendo, entretanto, com maior frequência em regiões tropicais e subtropicais¹⁹⁻²¹. As regiões do corpo mais afetadas incluem tórax, abdômen, dorso e membros superiores¹⁸. No presente estudo, os pacientes do sexo masculino apresentaram maior prevalência de *Pitiríase versicolor* do que os pacientes do sexo feminino. A esse respeito, não há um consenso na literatura sobre a prevalência desta micose nos dois sexos, tendo em vista

que alguns autores relataram uma maior ocorrência no sexo feminino^{19,22}, enquanto que outros observaram maior incidência no sexo masculino²³ e ainda há os que consideram distribuição similar entre os dois sexos¹⁸.

Com relação a outras micoses observadas, chamou atenção o fato de ter sido diagnosticado um caso de onicomicose por *Scytalidium dimidiatum*. Infecções por este fungo geralmente têm localização cutânea e assemelham-se morfológicamente aos dermatófitos, sendo relatados com baixa frequência no Brasil, provavelmente pelo fato de serem sensíveis aos inibidores, como cicloheximide presentes nos meios usuais de cultivo, o que dificulta o seu crescimento²³⁻²⁵.

Em conclusão, estes resultados permitem concluir que dentre as principais micoses observadas na rotina dermatológica do Hospital Universitário (dermatofitose, candidíase e *Pitiríase versicolor*) existem características epidemiológicas particulares que podem ou não estar relacionadas à região geográfica estudada e cuja frequência pode estar relacionada a variáveis como o sexo e faixa etária dos pacientes.

REFERÊNCIAS

1. Sidrim, J.J.; Moreira, J.L.B. Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 287p, 1999.
2. Rippon, J.W. Medical Mycology – The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes. Philadelphia: WB Saunders, 797p, 1988.
3. Wanke, B.; Lazéra, M.S.; Nucci, M. Fungal infections in the immunocompromised host. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 95(suppl 1): 153-158, 2000.
4. Walsh, T.J.; Groll, A.H. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. Transpl. Infect. Dis., 1:247-261, 1999.
5. Fleming, R.V.; Walsh, T.J.; Anaissie, E.J. Emerging and less common fungal pathogens. Infect. Dis. Clin. North Am., 16:915-933, 2002.
6. Reis, C.M.S.; Gaspar, A.P.A.; Gaspar, N.K.; Leite, R.M.S. Estudo da flora dermatofítica na população do Distrito Federal. An. Bras. Dermatol., 67:103-111, 1992.
7. Lopes, J.O.; Alves, S.M.; Benevenga, J.P. Dermatofitoses humanas no interior do Rio Grande do Sul no período de 1988-1992. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 36:115-9, 1994.
8. Dos Santos, J.I.; Negri, C.M.; Wagner, D.C.; Philipi, R.; Nappi, B.P.; Coelho, M.P. Some aspects of dermatophytoses seen at University Hospital in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 39:137-40, 1997.
9. Mezzari, A. Frequency of dermatophytes in the metropolitan area of Porto Alegre, RS, Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 40:71-76, 1998.
10. Rosseti, N. Um novo problema sanitário em São Paulo. Primeiros resultados de um inquérito sobre tinhas. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 1:217-303, 1941.
11. Bassanessi, M.C.; Conci, L.M.; Amaral, A.A.; Severo, L.C. Microepidemias de *Trichophyton tonsurans* e *Trichophyton violaceum* em Imbé e Tramandaí, RS. Rev. AMRIGS, 32:155-157, 1988.
12. Lopes, J.O.; Matte, S.W.; Werlang, J.; Silva, C.; Eidt, M. Tinha por *Trichophyton violaceum* no Rio Grande do Sul. Rev. AMRIGS, 38:224-225, 1994.
13. Lopes, J.O.; Alves, S.H.; Mari, C.R.D.; Oliveira, L.T.O.; Brum, L.M.; Westphalen, J.B.; Furlan, 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. São Paulo, 41:147-149, 1999.
14. Gupta, A.K.; Jain, H.C.; Lynde, C.W.; Watteel, G.N.; Summerbell, R.C. Prevalence and epidemiology of unsuspected onychomycosis in patients visiting dermatologists' offices in Ontario, Canada – a multicenter survey of 2001 patients. Int. J. Dermatol., 36:783-787, 1997.
15. André, J.; Achten, G. Onychomycosis. Int. J. Dermatol., 26:481-490, 1987.
16. Sehgal, V.N.; Jain, S. Onychomycosis: Clinical perspective. Int. J. Dermatol., 39:241-249, 2000.
17. Dogra, S.; Kumar, B.; Bhansali, A.; Chakrabarty, A. Epidemiology of ony-

- chomycosis in patients with diabetes mellitus in India. *Int.J. Dermatol.*, 41:647-651, 2002.
18. Sunenshine, P.J.; Schwartz, R.A.; Janniger, C.K. Tinea versicolor. *Int. J. Dermatol.*, 37:648-655, 1998.
19. Belém, L.F.; Lima, E.O.; Andrade, D.A.; Vasconcelos-Filho, P.A.; Guerra, M.F.L.; Carvalho, M.F.F.P.; Vargas, V.E.S. Estudo epidemiológico da pitiríase versicolor no estado da Paraíba, Brasil. *Rev. Bras. Anál. Clín.*, 33:63-67, 2001.
20. Furtado, M.S.S.; Cortêz, A.C.A.; Ferreira, J.A. Pitiríase versicolor em Manaus, Amazonas-Brasil. *An. Bras. Dermatol.*, 72:349-351, 1997.
21. Martins, E.L.; Gonçalves, C.A.; Mellone, F.F.; Paves, L.; Tcherniakovsky, M.; Montes, M.; Neto, M.; Pires, S. R.; Zequi, S.C.; Lacaz, C.S. Prospective study of pityriasis versicolor incidence in a population of the city of Santo Andre (state of Sao Paulo). *Med. Cutan. Ibero. Lat. Am.*, 17:287-291, 1989.
22. Borelli D.; Jacobs, P.H.; Nall, L. Tinea versicolor: epidemiologic, clinical, and therapeutic aspects. *J. Acad. Dermatol.*, 25:300-305, 1991.
23. Hay, R.J. Scytalidium infections. *Curr. Opin. Infect.Dis.*, 15:99-100, 2002.

24. Costa, E.F.; Wanke, B.; Monteiro, P.C.; Porto, E.; Wanke, N.C.; Lacaz, C.S. Cutaneous phaeoerythromycosis caused by *Scytalidium lignicola*. Report of the first three cases in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 84:135-136, 1989.
25. Lacaz, C.S.; Pereira, A.D.; Heins-Vaccari, E.M.; Cucé, L.C.; Benatti, C.; Nunes, R.S.; Melo, N.T.; Freitas-Leite, R.S.; Hernández-Arriagada, G.L. Onychomycosis caused by *Scytalidium dimidiatum*. Report of two cases. Review of the taxonomy of the synanamorph and anamorph forms of this coelomycete. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 41:319-323, 1999.

Endereço para correspondência:

Prof. Jairo Ivo dos Santos,
Departamento de Análises Clínicas - Centro de Ciências da Saúde
Universidade Federal de Santa Catarina - Campus Universitário - Florianópolis
Santa Catarina - SC
CEP: 88040-970
E-mail: jairosantos@ccs.ufsc.br
Tel: (0xx48) 331-9712

Título de Especialista em Análises Clínicas

O que é e como obtê-lo?

O TEAC – Título de Especialista em Análises Clínicas, é um documento outorgado pela SBAC – Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, no qual somente os profissionais que exercem as Análises Clínicas, e que sejam legalmente habilitados para assumirem a responsabilidade técnica por Laboratórios Clínicos, de acordo com a legislação federal vigente no país, é que podem prestar o Concurso para obter o Certificado do Título de Especialista em Análises Clínicas.

Para se inscrever no concurso do TEAC, os candidatos deverão solicitar o regulamento e ficha de inscrição à SBAC Nacional ou nas Regionais/Delegacias, por fax, telefone, e-mail, carta ou pessoalmente.

Condições para inscrição no Concurso do TEAC:

- Os candidatos habilitados a prestarem o Concurso são: Farmacêutico-bioquímico, Médico e Biomédico.
- Ser sócio da SBAC efetivo e estar em dia com os seus deveres estatutários.
- Preencher ficha de inscrição, colocando quais as matérias de peso 03 e 02.
- 3.1 O candidato obrigatoriamente terá que escolher as matérias de peso 03 e 02, a peso 03 deverá ser a matéria de maior conhecimento do candidato, e peso 02 a Segunda matéria de maior conhecimento do candidato, as outras matérias contarão como peso 01.
- Pagar taxa de inscrição do concurso.
- Para os inscritos no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, haverá desconto de 50% na taxa de inscrição do Concurso do TEAC.
- Após estes procedimentos, o candidato tem direito de receber o Programa do Concurso (impresso ou em disquete).

As Disciplinas:

- De acordo com o Programa o Candidato é avaliado pela Banca Examinadora do Concurso, no qual terá que ser aprovado nas seguintes Especialidades das Análises Clínicas:
 - Bioquímica Clínica;
 - Hematologia Clínica;
 - Imunologia Clínica;
 - Microbiologia Clínica;
 - Parasitologia Clínica.
- O conteúdo programático do Controle da Qualidade e da Segurança, é aplicado a essas disciplinas.
- Excepcionalmente o candidato também poderá ter como opção a matéria de Citologia Esfoliativa, sendo obrigatoriamente a primeira opção. Neste caso, o candidato também terá que se inscrever no Concurso para obtenção do TECC - Título de Especialista em Citologia Clínica, pela SBCC – Sociedade Brasileira de Citologia Clínica, sendo aprovado receberá o certificado pela SBCC.
- Tendo sido aprovado no Concurso para obtenção do TECC, e no Concurso para obtenção do TEAC, o Certificado do Título de Especialista em Análises Clínicas, terá o apostilamento em Citologia Esfoliativa no verso do Certificado.

5 – Não tendo sido aprovado no Concurso para obtenção do TECC, e sendo aprovado no Concurso do TEAC, o candidato terá o Certificado do Título de Especialista em Análises Clínicas, sem o apostilamento em Citologia Esfoliativa.

6 – Os portadores do Título de Especialista em Análises Clínicas, que se submeterem à prova para obtenção do TECC, pela SBCC e forem aprovados, terão seus Títulos apostilados no verso a especialidade de Citologia Esfoliativa.

As Provas:

O Concurso do TEAC é composto das Provas Escritas, Práticas de Conhecimento (dissertativa, Oral e Slide) e de Títulos (exercício profissional e atualização de conhecimentos).

Obs: a avaliação em Citologia pela SBCC, será Prova Escrita, Prática e Avaliação curricular.

Avaliação da Prova de Títulos a Outorga do TEAC:

Os Candidatos aprovados, terão que enviar num prazo máximo de 2 anos (de acordo com o Regulamento do TEAC), Currículo Vitae e cópia de documentação comprobatória de exercício profissional e atualização de conhecimentos.

Validade do TEAC:

O TEAC é um documento que tem validade de 05 (cinco) anos, de acordo com o seu Regulamento. Sendo assim, após 5 (cinco) anos da data de outorga ou da data da última renovação do Título de Especialista o profissional terá que comprovar que continua exercendo a profissão e que se atualizou nos últimos cinco anos, enviando os documentos que somem 2.000 pontos de acordo com o Capítulo III – Da Avaliação, Artigo 8º, do Regulamento do TEAC.

O Portador do TEAC que, na renovação não atingir o valor de pontos determinado no Regulamento, poderá submeter-se as Provas de Conhecimentos, que serão avaliadas, de acordo com o item 1 do Artigo 8º.

Próximo Concurso do TEAC e TECC:

Os próximos Concurso para Outorga do Título de Especialista em Análises Clínicas e Concurso para outorga do Título de Especialista em Citologia Clínica será realizado durante o 32º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas e 5º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica, nos dias 22 e 26 de maio de 2005, em Goiânia – GO.

Para os inscritos no 32º congresso Brasileiro de Análises Clínicas e 5º congresso Brasileiro de Citologia Clínica, haverá um desconto de 50% nas inscrições.

Caso ainda não esteja inscrito no congresso, o interessado deverá fazê-lo até 30 dias antes do início do evento.

Informações gerais:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC

Tel/fax (0xx21) 2264-4449 e 2204-0245 ou e-mail: teac@sbac.org.br

Sociedade Brasileira de Citologia Clínica - SBCC

Tel/fax (0xx62) 229-0468 e 223-5661 ou e-mail: sbccgo@terra.com.br

Perfil agregante em cardíacos em uso do ácido acetil salicílico*

Aggregant profile in cardiac patients using acetyl-salicylic acid.

Patrícia Sigilló Mazzoni Bernardi¹, Haroldo Wilson Moreira²

RESUMO - As plaquetas atuam na hemostasia, processo esse responsável pelo controle da perda sangüínea em um vaso lesado. O ácido acetil salicílico, um antiagregante plaquetário, tem sido avaliado em cardíacos, quanto a essa atuação, há mais de trinta anos. Os objetivos do presente projeto foram verificar a agregação plaquetária em pacientes cardíacos e hipertensos em uso do ácido acetil salicílico (AAS), nas concentrações de 100 mg/dia e 200 mg/dia, frente a agentes agonistas adenosina difosfato, ácido aracdônico e adrenalina em diferentes concentrações; realizar os mesmos estudos em um grupo considerado normal de doadores de sangue. O grupo analisado foi constituído por 41 pacientes cardíacos e por 40 doadores de sangue, considerado grupo controle. Os resultados evidenciaram que a realização de uma padronização com pool de plasmas frescos de doadores de sangue mostrou ser válida e aplicável para a agregação plaquetária. Ao estabelecermos nossos valores de referência para a agregação plaquetária frente a diferentes agentes agregantes, diferentes concentrações e frente à ausência de agente agregante, foi possível evidenciar que a maioria dos pacientes em estudo em ambas as concentrações de AAS, demonstraram perfil hipoagregante e os pacientes que excepcionalmente não responderam do mesmo modo, muito provavelmente deve-se à variáveis pessoais.

PALAVRAS-CHAVE - Perfil agregante, ácido acetil salicílico, cardíacos.

SUMMARY - The blood platelets act on the hemostasis, whose process is responsible for the control of the blood loss in a damage vessel. The acetyl-salicylic acid is an platelet antiaggregant and it is considered an antithrombotic medicine it was evaluated more than thirty years ago about this actuation. The purpose of the present project were verify the platelet aggregation about cardiac and hypertense patients that were using acetyl-salicylic acid (AAS) in concentration about 100 mg per day and 200 mg per day in advance the agonistic agents adenosine diphosphate, epinephrine and arachidonic acid in different concentrations; to realize the same study in a considered normal group of blood donors. The analized group was formed by 41 cardiac patients and by 40 blood donors. The results showed that the realized standard with pool of fresh plasma from blood donors showed to be valid and applicable for platelet aggregation. When we established our reference values for the platelet aggregation, we have different concentration and with the ausence of the aggregate agent, it was possible to put in evidence that most of the patients under studyng in both concentration of AAS showed a profile hipoagregate and the patients whose answer was not satisfied in the same way, probably this is due to a personal variations.

KEYWORDS - Profile aggregant, acetyl-salicylic acid, cardiacs.

INTRODUÇÃO

Aspirina, potente droga antitrombótica, tem sido utilizada há mais de 30 anos na clínica médica em pacientes cardíacos, sendo que um controle laboratorial do efeito antiagregante desse medicamento nem sempre tem sido realizado de forma efetiva⁷. De forma geral, com exceção de grandes centros, os exames laboratoriais utilizados na avaliação desses pacientes tem se concentrado em algumas provas da fase da coagulação e da fase da hemostasia primária¹³.

O papel das plaquetas foi inicialmente mais claramente associado com trombose do que com a hemostasia. Durante os anos 60, o interesse de muitos pesquisadores foi motivado pelo estudo da interação das plaquetas com o processo da coagulação sangüínea, envolvendo a interação dessas células com a parede vascular lesada denominada adesão plaquetária^{1, 7, 20}.

O processo de adesão plaquetária é seguido da agregação plaquetária com a conseqüente ativação posterior do me-

canismo da coagulação. A fase de agregação plaquetária envolve fibrinogênio e cálcio, sendo que o fibrinogênio liga-se a um receptor específico de membrana, a GP IIb/IIIa, permitindo que as plaquetas continuem ligadas entre si, sendo esta facilitada pelo cálcio plasmático e intraplaquetário^{8, 12}.

A amplificação e propagação contínua da agregação plaquetária é ativada pela formação do trombo plaquetário, expulsão de ADP e de outras substâncias ativas das organelas plaquetárias. Antes ou ao mesmo tempo que a reação de liberação, tem-se uma primeira alteração estrutural bem definida nas plaquetas ativadas, representada por uma transformação do formato discóide das plaquetas para esferas espinhosas com protusões ou filópodes, sendo esta considerada a primeira e reconhecida mudança no formato plaquetário. Isso ocorre devido à ativação do sistema contrátil da plaqueta, sendo que, alguns pesquisadores a consideram uma etapa distinta na função plaquetária. Experimentos in vitro e sob condições controladas evidenciaram que a mudança no formato da plaqueta, bem como a

Recebido em 22/06/2004

Aprovado em 21/10/04

* Parte da Dissertação de Mestrado apresentada e aprovada no Programa de Pós Graduação em Análises Clínicas da FCF - UNESP

1 Mestre em Análises Clínicas pelo Programa de Pós Graduação em Análises Clínicas da FCF - UNESP

2 Professor Titular em Hematologia Clínica da Disciplina de Hematologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas da FCF - UNESP

fase inicial da agregação, precede a reação de liberação dos conteúdos granulares, embora a seqüência exata dos eventos in vivo, ainda não tenha sido elucidada. A isso, segue-se a ativação ou disponibilidade do fator 3 plaquetário (PF-3) e outras substâncias pró-coagulantes, com o início da hemostasia secundária da coagulação, levando à consolidação da rolha plaquetária pela estabilidade da fibrina, com subsequente retração do coágulo^{2, 9, 10, 15}.

A agregação plaquetária é um teste que avalia a função das plaquetas pela exploração de diferentes vias de ativação plaquetária in vitro, podendo ser realizada em um agregômetro de plaquetas. Esse aparelho mensura uma combinação de absorção e dispersão de luz, podendo realizar leituras nefelométricas ou fotométricas. O mesmo registra alterações na transmissão da luz, pois ao adicionar agentes agonistas, tem-se um decréscimo dessa devido à mudança na forma das plaquetas, que passam de discóides à esféricas, sendo que a agregação plaquetária contínua permite com que o meio fique mais claro, possibilitando assim uma maior transmissão da luz^{3, 4, 5, 6, 13, 14, 21}.

A verificação laboratorial da agregação plaquetária permite mensurar parâmetros temporais, semi-quantitativos e qualitativos da função das plaquetas frente a vários agentes agregantes como adenosina difosfato (ADP), colágeno, adrenalina (ADR), trombina e ácido aracdônico (AA), podendo ser quantificada no plasma rico em plaquetas (PRP) ou no sangue total. Comparativamente aos outros testes que avaliam a hemostasia primária, essa técnica parece representar o melhor auxílio diagnóstico laboratorial na verificação dos distúrbios qualitativos adquiridos ou congênitos das plaquetas²¹.

O objetivo do trabalho foi avaliar o perfil agregante de indivíduos cardíacos em uso do AAS comparados a um grupo controle de doadores de sangue utilizado como referência para nossos valores da agregometria em porcentagem, frente à diferentes agentes agregantes.

MATERIAL E MÉTODOS

Os grupos analisados foram constituídos por 41 pacientes cardíacos e por 40 doadores de sangue considerados como nosso grupo controle. Dos pacientes cardíacos, 33 faziam uso regular do AAS na concentração de 200 mg/dia e 8 pacientes na concentração de 100 mg/dia, sendo todos considerados hipertensos. Do primeiro grupo, 12 eram do sexo masculino e 21 do sexo feminino, com faixa etária variando dos 46 aos 88 anos. Do segundo grupo, 7 eram do sexo feminino e 1 do masculino, com faixa etária variando dos 57 aos 84 anos. Entre os doadores de sangue a faixa etária variava dos 18 aos 49 anos, sendo 10 do sexo feminino e 30 do sexo masculino.

Para a realização da agregação plaquetária foram coletados 18 mL de sangue total por punção venosa, sendo este coletado em seringas plásticas de 20 mL e transferidos para 4 tubos de 4,5 mL siliconizados à vácuo com anticoagulante citrato de sódio tamponado a 0,109 M.

A agregação plaquetária foi verificada em agregômetro da marca NET LAB 2020 duplo canal, estandarizado na temperatura de 37°C, frente a agentes agonistas: adenosina difosfato (ADP), ácido aracdônico (AA) da marca Helena Laboratories e adrenalina (ADR) obtida no comércio farmacêutico e realizada dentro das quatro horas após a coleta do sangue, sendo primeiramente obtido o plasma rico em plaquetas (PRP) à 40 g durante 10 minutos e depois o plasma pobre em plaquetas (PPP) à 750 g durante 15 minutos em centrífuga de 8,5 cm de raio. O PRP foi transferido com cuidado sem encostar a ponteira na parede do tubo e em

seguida realizada a contagem de plaquetas. As plaquetas do PRP foram corrigidas para 250.000/mm³. Após a correção foi realizada a verificação da agregação frente aos agentes agonistas em diferentes concentrações: ADP 1 µM e 3 µM; AA 0,5 mM; ADR 0,05 mg/mL, ADR 0,025 mg/mL e ADR 0,010 mg/mL. Os resultados foram obtidos em porcentagem dentro de um tempo padronizado de cinco minutos¹¹.

A padronização da agregação plaquetária foi realizada com a utilização de quatro pools diferentes constituído cada um de plasma de 10 doadores de sangue, sendo realizada em agregômetro estandarizado em fornecer curva dentro dos cinco primeiros minutos de agregação, sendo estes centrifugados o mais rápido possível para a obtenção do PRP, à 40g durante 10 minutos.

Os resultados obtidos para os grupo estudo e controle foram comparados através do teste t-Student, considerando-se os dados da média e do desvio padrão para cada grupo. Considerou-se estatisticamente significativo quando obtido um $p \geq 0,05$ ¹⁷.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A padronização da agregação plaquetária estava na dependência do encontro de traçados correspondentes à ondas de agregação e da necessidade de estipular valores de referência para nosso equipamento e para nossas condições laboratoriais e o resultado da agregação final em porcentagem no tempo de 5 minutos estipulados pelo aparelho.

Numerosos produtos podem ser avaliados como promotores da agregação plaquetária in vitro, podendo-se destacar o ADP, a ADR e o AA¹⁵.

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram estipular, para o nosso estudo, valores da média e do desvio padrão e com esses, caracterizarmos os valores de referência válidos para o nosso aparelho e nossas condições metodológicas, sendo nossa opção, considerarmos a média com uma variação equivalente a duas vezes o desvio padrão da média (tabela 1), o que estatisticamente representa 95% da população. Todavia esses resultados, algumas vezes, surpreendem por fornecerem resultados muito elevados, como é o caso do máximo valor de referência para a adrenalina na concentração 0,05 mg/mL e para o ácido aracdônico nas concentrações 1,5 mM e 1,0 mM.

TABELA I – Média, desvio padrão da média e variações consideradas como referência dos valores da agregometria em porcentagem frente aos diferentes agentes agregantes utilizados

Agente Agregante (concentração)	Média X	Desvio Padrão DP	Varição X ± 2 DP
Espontânea (sem agente agregante)	3,75	1,26	1,23 – 6,27
Adenosina Difosfato (1 µM)	65,00	8,83	47,34 – 82,66
Adenosina Difosfato (3 µM)	78,50	5,57	67,36 – 89,64
Adrenalina (0,05 mg/mL)	82,50	7,85	66,80 – 98,20
Adrenalina (0,025 mg/mL)	78,25	4,19	69,87 – 86,63
Adrenalina (0,010 mg/mL)	76,50	4,36	67,78 – 85,22
Ácido Aracdônico (1,5 mM)	91,25	0,50	90,25 – 92,25
Ácido Aracdônico (1,0 mM)	87,00	5,23	76,54 – 97,46
Ácido Aracdônico (0,5 mM)	81,25	3,40	74,45 – 88,05

Alguns autores, na dependência de suas experiências laboratoriais, diminuem esses valores considerados como referência, como é o caso de KANAYAMA¹¹, que utiliza o mesmo modelo de aparelho e considera os valores válidos de referência e limítrofes para 80% da população (variações de 1 DP), o que difere consideravelmente de nossa opção.

Os resultados expressam a agregação plaquetária dos 33 pacientes AAS 200 mg/dia, sendo todos coletados em jejum de oito horas e o processo realizado dentro de, no máximo, quatro horas após a coleta.

Dos 33 pacientes efetivamente analisados que utilizavam o AAS 200 mg/dia, um deles apresentou perfil normoagregante para o ADP e ADR em todas as concentrações e perfil hipoadgregante para o AA. Um outro paciente, apresentou perfil normoagregante para todos os agentes utilizados, sendo portanto, esses dois pacientes, considerados exceções.

Os resultados da média e desvio padrão em porcentagem da agregação nos 31 pacientes que faziam uso do AAS 200 mg/dia, expressos em porcentagem dentro dos cinco primeiros minutos de agregação correlacionados com os agentes agregantes utilizados, encontram-se na Tabela 2. Desses resultados podemos dizer que para o ADP 1 µM foram observados 28 pacientes do total analisado com perfil hipoadgregante (90,3%), sendo que para o ADP 3 µM esse mesmo perfil foi observado em 29 pacientes do total analisado (93,5%).

Para a ADR 0,05 mg/mL observamos 28 pacientes hipoadgregantes (90,3%), para a ADR 0,025 mg/mL, 30 hipoadgregantes (96,7%) e para ADR 0,010 mg/mL, 31 hipoadgregantes (100%).

Por sua vez, para o AA 0,5 mM todos os pacientes demonstraram perfil hipoadgregante (100%).

TABELA II

Resultados da média e desvio padrão em porcentagem, nos 31 pacientes AAS 200 mg/dia frente aos diferentes agentes agregantes e concentrações

Pacientes	Espontânea	ADP 3 µM	ADP 1 µM	ADR 0,05	ADR 0,025 mg/mL	ADR 0,010 mg/mL	AA 0,5 mM
Média	4,03	45,68	23,06	42,23	39,71	37,90	6,61
D. Padrão	2,40	16,33	15,67	15,67	15,37	13,96	3,13

Quando a agregometria foi aplicada aos pacientes de nosso grupo estudo pudemos observar que a maioria daqueles que faziam uso do AAS 200 mg/dia demonstraram, na média, perfil hipoadgregante. Entretanto, ao analisarmos esses pacientes de forma individualizada e considerarmos a possibilidade de variações e alterações próprias, podemos destacar seis pacientes considerados algumas exceções dentro dessa média.

Os resultados da média e desvio padrão em porcentagem da agregação nos 8 pacientes que faziam uso do AAS 100 mg/dia, expressos em porcentagem dentro dos cinco primeiros minutos de agregação correlacionados com os agentes agregantes utilizados, encontram-se na Tabela 3. No caso dos pacientes que faziam uso do AAS 100 mg/dia, pudemos verificar que na utilização do ADP 1 µM, todos os 8 pacientes demonstraram perfil hipoadgregante (100%) e para o ADP 3 µM, 7 pacientes do total analisado com perfil hipoadgregante (87,5%).

Para a ADR 0,05 mg/mL e 0,025 mg/mL, 7 pacientes do to-

tal analisado demonstraram perfil hipoadgregante (87,5%), e no caso da ADR 0,010 mg/mL, todos os 8 pacientes evidenciaram perfil hipoadgregante (100%).

Por sua vez, para o AA 0,5 mM, todos os pacientes demonstraram perfil hipoadgregante (100%).

TABELA III

Resultados da média e desvio padrão em porcentagem, dos 8 pacientes que utilizavam AAS 100 mg/dia frente aos diferentes agentes agregantes e concentrações

Pacientes	Espontânea	ADP 3 µM	ADP 1 µM	ADR 0,05	ADR 0,025 mg/mL	ADR 0,010 mg/mL	AA 0,5 mM
Média	4,63	49,75	21,63	45,75	43,88	41,75	9,13
D. Padrão	2,72	14,50	8,75	16,32	15,34	11,77	5,96

Os resultados observados nos pacientes cardíacos que faziam uso de AAS na concentração de 100 mg/dia, demonstraram na média perfil hipoadgregante quando comparados com indivíduos que não utilizavam esse medicamento. Analisando-se também de forma individualizada e considerando a possibilidade de variações e alterações próprias, podemos destacar um paciente como exceção dentro dessa média. Temos que considerar que esses resultados devem ser observados com cuidado, considerando o baixo número de amostras nessa concentração.

De modo geral, podemos depreender desses resultados, que pacientes cardíacos que fazem uso de AAS nas concentrações de 200 mg/dia ou 100 mg/dia apresentam um perfil hipoadgregante e que os pacientes que, excepcionalmente, não respondem do modo acima ou que apresentam resultados variáveis na dependência do agente agregante utilizado e de sua concentração, muito provavelmente se deve a características pessoais inter e intra específicas^{16, 18}.

TOHGI e colaboradores¹⁹, analisando os efeitos de baixas e altas concentrações de AAS (40 mg/dia, 300 mg/dia e 1280 mg/dia) em japoneses pós-infarto quanto à agregação plaquetária observaram que frente a ADP 10 µM ocorria uma redução significativa da agregação depois da administração de 40 mg/dia, sendo a mesma similar com as outras dosagens. Por sua vez a utilização de ADP 1 µM e 5 µM forneceram uma significância menor na agregação plaquetária. Comparativamente no nosso trabalho utilizamos baixos estímulos (1 µM e 3 µM de ADP) e observamos que nas concentrações de 100 mg/dia e 200 mg/dia, a maioria dos pacientes apresentaram perfil hipoadgregante frente aos nossos valores de referência. Também, diferentemente de Tohgi e colaboradores¹⁹, analisamos essas dosagens frente a ADR e ao AA, observando perfil hipoadgregante para a maioria dos pacientes analisados.

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que o estabelecimento da padronização para a agregação plaquetária permitiu estipular valores de referências válidos para o nosso equipamento e nossas condições laboratoriais, frente à ação de diferentes agentes agregantes, concentrações e frente à ausência do agente agregante. Esses resultados podem ser utilizados por outros autores com pretensão de realizar as mesmas provas. A maioria dos pacientes que faziam uso do AAS 200 mg/dia e 100 mg/dia, demonstraram perfil hipoadgregante frente aos agentes agregantes utilizados, quando comparados a um grupo considerado normal. Os pacientes que, excepcionalmente, não respondem do modo acima ou que apresentam resultados variáveis na dependência do agente agregante

utilizado e de sua concentração, muito provavelmente se deve a características de que a inibição plaquetária não representa um processo uniforme, sendo considerado o efeito antiplaquetário do AAS provavelmente dependente de variáveis pessoais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Dra. Tânia Rúbia Flores da Rocha, responsável pelo laboratório de coagulação do Hospital das Clínicas de São Paulo pelo auxílio durante o trabalho, ao professor Dr. Amauri Antiquera Leite pela oportunidade de realizar o trabalho utilizando os aparelhos necessários e ao Dr. José Maria Silveira de Souza, responsável pelo Laboratório Deltha Análises Clínicas de São Carlos pela disponibilidade em emprestar o aparelho para a realização da agregação plaquetária, que foi fundamental na realização desse trabalho.

REFERÊNCIAS

1. BECKER, R. C. Thrombosis and the role of the platelet. *Am. J. Cardiol.*, v. 83, n. 9A, p. 3 - 6, 1999.
2. BITHELL, T. C. A fisiologia da hemostasia primária. In: LEE, G. R.; BITHELL, T. C.; FOERSTER, J.; ATHENS, J. W.; LUKENS, J. N. *Wintrobe: hematologia clínica*. São Paulo: Manole, 1998a. v. 1, cap. 18, p.587 - 614.
3. BITHELL, T. C. Abordagem diagnóstica das desordens do sangramento. In: LEE, G. R.; BITHELL, T. C. FOERSTER, J.; ATHENS, J. W.; LUKENS, J. N. *Wintrobe: hematologia clínica*. São Paulo: Manole, 1998d. v. 2, cap. 48, p. 1427 - 1457.
4. BORN, G. V. R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*, v. 194, p. 927 - 929, 1962.
5. BORN, G. V. R.; CROSS, M. J. The aggregation of blood platelets. *J. Physiol.*, v. 168, p. 178 - 195, 1963.
6. FOX, J. E. B. Platelet activation: new aspects. *Haemostasis*, v. 26, suppl. 4, p. 102 - 131, 1996.
7. GAETANO, G. Historical overview of the role of platelets in hemostasis and thrombosis. *Haematologica*, v. 4, p. 349 - 356, 2001.
8. HARMENING, D. M.; LEMERY, L. D. Introduction to hemostasis. An overview

of hemostatic mechanism, platelet structure and function, and extrinsic and intrinsic systems. In: HARMENING, D. M. *Clinical Hematology and Fundamentals of Hemostasis*. 3rd ed. Philadelphia: F. A Davis, 1997. cap 26, p. 481 - 508.

9. HOLMSEN, H. Platelet metabolism and activation. *Semin. Hematol.*, v. 22, n. 3, p. 219 - 240, 1985.
10. HOVIG, T. Blood platelet surface and shape a scanning electron microscopic study. *Scand. J. Haematol.*, v. 7, p. 420 - 427, 1970.
11. KANAYAMA, R. H. Agregação plaquetária: procedimento técnico. São Paulo: Hospital Israelita Albert Einstein, 2003. 5 p. (Manual Técnico, ALABO. PR. TE. 008).
12. LORENZI, T. F. Manual de hematologia: propedêutica e clínica. 2.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1999. p. 161 - 216.
13. LOURENÇO, D. M. Avaliação Laboratorial da Hemostasia. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. *Hematologia: fundamentos e prática*. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 66, p. 749 - 755.
14. MILLER, J. L. Plaquetas In: Henry, J. B. *Diagnósticos clínicos e Tratamento por métodos laboratoriais*. 19 ed, São Paulo: Manole, 1999. p. 701 - 47.
15. MUSTARD, J. F.; PACKHAM, M. A. Factors influencing platelet function - adhesion, release and aggregation. *Pharmacol. Rev.*, v. 22, p. 97 - 187, 1970.
16. PEREZ - REQUEJO, J. L. Resistencia a La Aspirina. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE HEMOSTASIS Y TROMBOSIS - Grupo CLAHT, 18., 2003, Rio de Janeiro, R. J. *Anais...*Rio de Janeiro, 2003. 5p.
17. SCHEFLER, W. C. *Statistics for the biological sciences*. Massachusetts: Addison-Wesley, 1969. p. 68 - 82.
18. SMOUT, J.; STANSBY, G. Aspirin resistance. *Br. J. Surg.*, v. 89, n. 1, p. 4 - 5, 2002.
19. TOHGI, H.; KONNO, S.; TAMURA, K.; KIMURA, B; KAWANO, K. Effects of low-to-high doses of aspirin on platelet aggregability and metabolites of thromboxane A2 and prostacyclin. *Stroke*, v. 23, p. 1400 - 1403, 1992.
20. TRIPLETT, D. A. *Coagulation and Bleeding Disorders: review and update*. *Clin. Chem.*, v. 46, n. 8 B, p. 1260 - 1269, 2000.
21. ZUCKER, M. B. Platelet aggregation measured by the photometric method. *Methods. Enzymol.*, v. 169, p. 117 - 133, 1989.

Endereço para correspondência

Dr. Haroldo Wilson Moreira

Faculdades de Ciências farmacêuticas de Araraquara - UNESP

Disciplina de Hematologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas

CEP: 14.801-902 - Caixa Postal: 502 - Araraquara - SP

XXXII Congresso Brasileiro de Análises Clínicas V Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

22 a 26 de maio de 2005

Centro de Convenções de Goiânia
Goiânia - GO

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Parasitas intestinais. prevalência e correlação com a idade e com os sintomas apresentados de uma população infantil de Presidente Prudente-SP

Prevalence of enteroparasites in children from Presidente Prudente-SP as correlated to age and clinical symptoms.

Nair Toshiko Tashima¹ & Maria Jacira Silva Simões²

RESUMO - O objetivo deste estudo foi estimar a prevalência de enteroparasitoses em crianças de 0 a 12 anos de Presidente Prudente - SP, por meio de exames parasitológicos. Um questionário foi aplicado com o objetivo de conhecer as seguintes variáveis: idade do paciente e sinais clínicos. Para a elaboração da estrutura de banco de dados e sua análise, utilizou-se o programa EPI INFO 6 (Versão 6.04b) após pré-codificação dos dados. Das 1000 amostras estudadas, 78,7% das crianças não apresentaram parasitas e 21,3% apresentaram alguma espécie de parasita. O protozoário mais freqüente foi *Giardia lamblia* (7,3%) seguido de *Entamoeba coli* (3,9%). Os helmintos mais freqüentes foram *Enterobius vermicularis* (1,9%), seguido de *Hymenolepis nana* (0,5%). A associação mais freqüente foi *Giardia lamblia* / *Entamoeba coli* (0,9%).

PALAVRAS-CHAVE - Enteroparasitoses; Prevalência; Crianças; Epidemiologia

SUMMARY - The aim of this study was to access the enteroparasitic prevalence in children from 0 to 12 years old at Presidente Prudente city, São Paulo State, associated to the age and clinical signs. Stool samples were taken and examined. A questionnaire was applied with the objective of knowing the following variables: patient's age and clinical signs. The software EPI INFO 6 (Version 6.04b) was used for the elaboration of the data bank structure and its analysis after previous data codification. Among 1,000 samples, 78.7% of the children did not have parasites and 21.3% presented some parasite. The most frequent protozoan was *Giardia lamblia* (7.3%) followed by *Entamoeba coli* (3.9%). The most frequent helminth was *Enterobius vermicularis* (1.9%) followed by *Hymenolepis nana* (0.5%). The most frequent protozoan association was *Giardia lamblia* / *Entamoeba coli* (0.9%).

KEYWORDS - Enteroparasitosis; Prevalence; Children; Epidemiology

INTRODUÇÃO

O mundo é entendido como um complexo ecossistema no qual os padrões de doenças variam grandemente de um país para outro. Os tipos e taxas de doenças em um país são uma espécie de "impressão digital", que geralmente têm relação com a renda "per capita", o estilo de vida, as ocupações predominantes e o clima (Jekel *et al.*, 1999).

As enteroparasitoses humanas são um problema de saúde pública e podem ser consideradas como indicadores das condições sócio-econômicas em que vive uma dada população. Face à baixa mobilidade e à vulnerabilidade, as crianças menores de 5 anos refletem a contaminação de uma região (Stendel *et al.*, 2002).

As helmintíases e protozooses constituem afecções de alta incidência, com grande repercussão na saúde do indivíduo, sendo uma preocupação constante na saúde pública. Embora sejam cosmopolitas, a prevalência é maior em regiões tropicais, tendo uma estreita relação com a pobreza humana. (Stendel *et al.*, 2002).

Apesar da rápida urbanização que ocorreu nas últimas décadas na América Latina, 75% da população moram em áreas em que ainda ocorrem parasitoses, tanto na zona rural quanto na urbana (Cancrini *et al.*, 1982).

As infecções intestinais por helmintos e protozoários, do

ponto de vista sanitário, geralmente estão relacionadas ao subdesenvolvimento das populações, mas podem ser encontradas em comunidades com elevado padrão de vida e cultura (Costa Gurgel *et al.*, 1992). Comunidades marginalizadas nos grandes aglomerados humanos, geralmente desprovidas de infra-estrutura sanitária mínima, criam condições ótimas para a transmissão de helmintos, como *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* e enteroprototozoários como *Entamoeba histolytica* e *Giardia lamblia* (Stephenson, 1994).

Em países tropicais, o clima, associado à falta de conhecimento e condições sanitárias, favorece a disseminação das enteroparasitoses que acometem grande parte da população. Esse quadro, além de mostrar um grande problema de saúde pública, caracteriza o subdesenvolvimento das populações com condições precárias de higiene, dificuldades econômicas, desconhecimento de medidas preventivas, desnutrição e outras variáveis agravantes do problema, como a falta de ações na área de saúde por parte das autoridades (Costa-Gurgel, 1992).

Muitas doenças prevalentes na infância, tais como, diarreia aguda, sarampo e parasitoses intestinais, tendem a registrar maior incidência durante esta etapa de vida e destroem milhões de vidas a cada ano.

Este trabalho teve como objetivo determinar a prevalência das principais enteroparasitoses em crianças de 0 a 12

Recebido em 01/04/2004

Aprovado em 08/07/2004

1 Universidade do Oeste Paulista - Presidente Prudente.

Rua : José Alfredo da Silva, 1332- Jd. Paulista CEP- 19 023-210- Presidente Prudente-SP

ntashima@muramet.com.br

2 Faculdade de Ciências Farmacêuticas- Araraquara. Rodovia Araraquara-Jaú, Km 1-CEP 14 801-902- Araraquara-SP
simoessj@fctfar.unesp.br

anos da cidade de Presidente Prudente- SP e analisar a associação entre enteroparasitoses e idade e enteroparasitoses e sintomas citados pelas crianças ou os responsáveis durante a entrevista realizada.

MATERIAL E MÉTODOS:

Local de estudo

A cidade de Presidente Prudente está localizada no sudoeste do Estado de São Paulo a 560 Km da capital, situada entre 22°07'04" de latitude e 51°22'57" de longitude. A cidade apresenta 530,89 km², com uma temperatura média de 28°C.

Os exames parasitológicos foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UNOESTE, junto ao Departamento de Parasitologia Clínica.

Foram analisadas 1000 amostras de fezes de crianças de 0 a 12 anos.

Um formulário foi elaborado com o objetivo de conhecer as variáveis como, idade das crianças e sinais clínicos apontados. As entrevistas foram feitas por dois entrevistadores, previamente treinados, após ter sido feita a prova piloto para que o formulário assumisse sua forma definitiva.

Exame Parasitológico

Sistematicamente, foi executado por meio de três métodos, referentes ao método de sedimentação espontânea segundo Lutz (1934), muito utilizado no diagnóstico do exame parasitológico de fezes, pelo baixo custo operacional, fácil execução e também por detectar satisfatoriamente quase todas as formas das espécies de enteroparasitas. Também, foram empregados o método de Faust (Amato Neto *et al.* 1963), utilizado para a concentração de cistos de protozoários e ovos de helmintos e o método de Rugai (Vallada, 1988), usado para detectar larvas de helmintos.

Alguns parasitas intestinais foram também diagnosticados por métodos específicos, quando solicitados pela clínica médica, como por exemplo, o exame a fresco, para a observação de forma vegetativa dos protozoários, a tamização e clarificação de proglotes, para a identificação da *Taenia sp* (Vallada, 1988) e, ainda, o método de Graham (Vallada, 1988) para a pesquisa de ovos de *Enterobius vermicularis* (Amato Neto *et al.* 1963).

Além disso, o exame de uma única amostra fecal reduz de 30 a 50% a sensibilidade de detecção de cistos de *Giardia lamblia*, cuja eliminação pelo hospedeiro ocorre de modo intermitente (Thompson *et al.*, 1993). Todos os exames parasitológicos foram realizados no Laboratório Clínico da Faculdade de Farmácia da Unoeste, no Departamento de Parasitologia.

RESULTADOS

Das 1000 amostras realizadas 787 crianças não apresentaram parasitas e 213 apresentaram algum tipo de parasita. A ocorrência parasitária foi analisada segundo duas categorias: monoparasitismo e poliparasitismo (tabela 1). Houve predominância de monoparasitismo (168 casos) em relação à ocorrência de poliparasitismo (45 casos), cujas espécies estão relacionadas na tabela 1. Dentre as crianças

que apresentaram monoparasitismo, *Giardia lamblia* foi o mais freqüente, seguido de *Entamoeba coli*, *Endolimax nana* e *Enterobius vermicularis*. Entre as crianças que apresentaram poliparasitismo, a associação mais freqüente foi entre *Giardia lamblia* e *Entamoeba coli*, seguido por *Entamoeba coli* e *Endolimax nana*. (tabela 1). Quando se avaliou a ocorrência de parasitas por faixa etária, observou-se que as crianças compreendidas entre 1 e 4 anos foram as que mais revelaram a ausência de parasitas, mas foi a faixa que apresentou a maior prevalência de *Giardia lamblia*. Entretanto, exceto *Entamoeba coli* que foi encontrado em um caso, nenhum parasita foi encontrado em crianças com idade menor que 1 ano. O helminto mais freqüente foi *Enterobius vermicularis*, presente em uma criança da faixa de 1 a 4 anos, 11 na faixa de 4 a 8 e 7 casos entre 8 e 12 anos. A associação mais freqüente foi *Giardia lamblia* e *Entamoeba coli*, observada em 5 crianças da faixa de 4 a 8 anos, seguida de 3 casos em crianças de 1 a 4 anos e um caso em crianças de 8 a 12 anos. Outras associações ocorreram em menor freqüência

TABELA I. Diagnóstico de parasitas segundo a idade (em anos) das crianças. Presidente Prudente – SP, 2001

Diagnóstico de Parasitas	idade				Total
	0 - 1	1 - 4	4 - 8	8 - 12	
Ausência	46	305	243	193	787
<i>Giardia lamblia</i>	-	40	16	17	73
<i>Entamoebacoli</i>	1	10	14	14	39
<i>Entamoeba histolytica</i>	-	-	-	1	1
<i>Iodamoeba butschlii</i>	-	-	-	1	1
<i>Endolimax nana</i>	-	3	7	9	19
<i>Ascaris lumbricoides</i>	-	2	1	-	3
<i>Hymenolepis nana</i>	-	-	2	3	5
<i>Taenia sp</i>	-	-	-	1	1
<i>Enterobius vermicularis</i>	-	1	11	7	19
Ancilostomídeo	-	1	-	1	2
<i>Shistosoma mansoni</i>	-	-	2	-	2
<i>Trichuris trichiura</i>	-	1	1	1	3
(Total de monoparasitismo)	(1)	(58)	(54)	(55)	(168)
<i>Giardia lamblia</i> / <i>Entamoebacoli</i>	-	3	5	1	9
<i>Giardia lamblia</i> / <i>Endolimax nana</i>	-	1	1	-	2
<i>Giardia lamblia</i> / <i>Ascaris lumbricoides</i>	-	1	-	-	1
<i>Giardia lamblia</i> / <i>Hymenolepis nana</i>	-	-	-	2	2
<i>Giardia lamblia</i> / <i>Taenia sp</i>	-	1	-	-	1
<i>I. butschlii</i> / <i>H. nana</i> / <i>A. lumbricoides</i> / <i>E. nana</i>	-	-	1	-	1
<i>E. coli</i> / <i>E. nana</i> / <i>H. nana</i>	-	-	-	1	1
<i>E. nana</i> / <i>E. coli</i> / <i>E. histolytica</i>	-	1	1	-	2
<i>E. coli</i> / <i>E. nana</i>	-	1	3	3	7
<i>G. lamblia</i> / <i>H. nana</i> / <i>T. trichiura</i>	-	-	1	-	1
<i>E. coli</i> / <i>E. vermicularis</i>	-	-	2	1	3
<i>E. nana</i> / <i>I. butschlii</i>	-	-	2	-	2
<i>Strongyloides stercoralis</i>	-	1	-	1	2
<i>E. coli</i> / <i>E. histolytica</i>	-	1	-	-	1
<i>E. coli</i> / <i>T. trichiura</i>	-	-	1	-	1
<i>A. lumbricoides</i> / <i>T. trichiura</i> / <i>S. stercoralis</i>	-	-	1	-	1
<i>A. lumbricoides</i> / <i>E. coli</i>	-	-	1	-	1
<i>E. coli</i> / <i>E. nana</i> / <i>A. lumbricoides</i>	-	-	3	-	3
<i>G. lamblia</i> / <i>T. trichiura</i>	-	-	2	-	2
<i>G. lamblia</i> / <i>T. trichiura</i> / <i>A. lumbricoides</i>	-	-	-	1	1
<i>E. nana</i> / <i>E. vermicularis</i>	-	-	-	1	1
(Total de poliparasitismo)	-	(10)	(24)	(11)	(45)
Total	1	68	78	66	213

Quando se avaliou a ocorrência de sintomas passíveis de estarem relacionados com a ocorrência de enteroparasitas, das mil crianças estudadas, 77% não apresentaram sintomas, enquanto 23% apresentaram algum sintoma, sendo a queixa mais relatada a diarreia, com 23 casos.

TABELA II
Associação entre as espécies de parasitas e os sintomas
relatados pelas crianças.
Presidente Prudente – SP, 2001.

Parasitas	Sintomas							Total	
	Diarréia	Vômito	Dor de Barriga	Diarréia e Vômito	Diarréia e Dor de Barriga	Vômito e Dor de Barriga	Diarréia, Vômito e Dor de Barriga		
Au sentes	59	3	57	14	15	4	5	630	787
GL	11	1	6	1	10	-	4	40	73
EC	5	-	2	-	-	-	-	32	39
EH	-	-	-	-	-	-	-	1	1
IB	-	-	-	-	-	-	-	1	1
EN	2	-	1	-	2	-	-	14	19
AL	1	-	-	-	-	-	-	2	3
HN	1	-	1	-	-	-	-	3	5
T	-	-	-	-	-	-	-	1	1
EV	-	-	4	-	-	1	-	14	19
Na	-	-	-	-	-	-	-	2	2
SM	-	-	2	-	-	-	-	-	2
TT	-	-	1	-	-	-	-	2	3
GL / EC	-	-	-	-	1	-	1	7	9
GL / EN	-	-	-	-	-	-	-	2	2
GL / AL	-	-	-	-	-	-	1	-	1
GL / HN	-	-	1	-	-	-	-	1	2
GL / T	-	-	-	-	-	-	-	1	1
IB / HN / AL / EN	-	-	-	-	1	-	-	-	1
EC / EN / HN	-	-	-	-	1	-	-	-	1
EN / EC / EH	-	-	-	-	1	-	-	1	2
EC / EN	1	-	-	-	-	-	-	6	7
GL / HN / TT	1	-	-	-	-	-	-	-	1
EC / EV	1	-	1	-	1	-	-	-	3
EN / IB	-	-	-	-	-	-	-	2	2
SS	-	-	1	-	1	-	-	-	2
EN / TT	-	-	-	-	-	-	-	1	1
EC / TT	-	-	-	-	-	-	-	1	1
AL / TT / SS	-	-	-	-	-	-	-	1	1
AL / EC	-	-	-	-	-	-	-	1	1
C / EN / AL	-	-	-	-	-	-	-	3	3
GL / TT	-	-	1	-	-	-	-	1	2
GL / TT / AL	-	1	-	-	-	-	-	-	1
EN / EV	-	-	-	-	1	-	-	-	1
Total Presentes	23	2	21	1	19	1	6	140	213
230									
Total geral	82	5	78	15	34	5	11	770	1000

GL = *Giardia lamblia*; EC = *Entamoeba coli*; EH = *Entamoeba histolytica*; IB = *Iodamoeba butschlii*; EN = *Endolimax nana*; AL = *Ascaris lumbricoides*; HN = *Hymenolepis nana*; T = *Taenia sp.*; EV = *Enterobius vermicularis*; An = *Ancilostomídeo*; SM = *Schistosoma mansoni*; TT = *Trichuris trichiura*.

Das 73 crianças que apresentaram *Giardia lamblia*, 40 não apresentaram nenhum sintoma e entre essas, a queixa mais freqüente foi de diarréia (11 casos), seguida de diarréia e dor de barriga (10 casos). Quanto à ocorrência do protozoário comensal *Entamoeba coli*, na maioria dos casos (32) não relatou sintoma algum e apenas cinco crianças apresentaram diarréia.

Dezenove crianças apresentaram *Enterobius vermicularis*, dos quais 14 não apresentaram sintomas (tabela 2) e apenas quatro crianças apresentaram dor de barriga. *Endolimax nana*, outro comensal, também esteve presente em 19 amostras, sendo que destas 14 não apresentaram sintomas, 2 apresentaram diarréia, 1 dor de barriga e 2 tinham diarréia e dor de barriga. As demais crianças apresentaram parasitas comensais e quando tinham parasitas patogênicos, a ocorrência foi de um ou dois casos.

DISCUSSÃO

O presente trabalho mostrou que da população estudada, 21,3% das crianças atendidas no Laboratório Clínico da Unoeste, Presidente Prudente - SP, menores de 12 anos apresentavam cistos ou ovos de, pelo menos, um parasita. O protozoário *Giardia lamblia* e o helminto *Enterobius vermicularis* foram os parasitas mais freqüentes, com prevalência de 7,3% e 1,9%, respectivamente. Esses valores podem estar subestimados porque nem todos os exames fo-

ram realizados em três amostras, em dias alternados. Merece destaque o aspecto apoiado pela literatura sobre a insuficiência de um único exame parasitológico de fezes para diagnosticar o cisto de *Giardia lamblia* (Sawitz & Faust, 1942), em relação a eliminação de cistos pelo indivíduo infectado não ser constante, o que pode negativamente temporariamente, durante alguns dias, o resultado dos exames. Estudos realizados para determinar a eficácia dos exames parasitológicos de fezes para identificação de cistos indicaram 73% de sucesso no primeiro exame e de 100% no quinto exame (Jokipii, 1977). Nazer *et al.* (1993) detectaram, no primeiro exame, 66% de positividade e 100% em três exames.

A freqüência de giardíase, significativamente elevada em um trabalho realizado por Machado *et al.* (1999), concluiu que tanto a idade quanto o nível sócio-econômico são determinantes da giardíase. O nível sócio-econômico e o cultural influenciam as condições de higiene pessoal e os cuidados com a água e alimentos, podendo-se inferir que em classes menos favorecidas esses cuidados não são rigorosamente observados. Apesar de quase todas as crianças que constituíram esta amostra residirem em casas com água encanada, ainda houve alto índice de ocorrência de giardíase, o que corrobora resultados de outros autores que afirmam que a cloração não destroe adequadamente o parasita (La Via, 1994).

A literatura mundial pertinente à prevalência de amebíase intestinal por faixa etária é controversa. Perez *et al.* (1977) e Braga *et al.* (1976), ao estudarem indivíduos espanhóis e habitantes da região nordeste do Brasil, respectivamente, observaram maior prevalência desta protozoose na faixa etária entre 6 e 14 anos. Por sua vez, Kobayashi *et al.* (1995) ao analisarem amostras da população de Holambra, São Paulo, notaram maior positividade em pacientes maiores de 16 anos. Neste trabalho verificou-se apenas 1 criança parasitada por *Entamoeba histolytica* com idade entre 8 a 12 anos.

O segundo protozoário mais freqüente foi *Entamoeba coli* (3,9%) e em seguida *Endolimax nana* (1,9%). Sendo eles enterococcos, optou-se pela análise em conjunto, uma vez que eles têm o mesmo mecanismo de transmissão e podem servir como um bom indicador das condições sócio-sanitárias (Rocha *et al.* 2000), uma vez que esses enterococcos têm a mesma fonte de infecção de outros protozoários patogênicos como, por exemplo, *Giardia lamblia*. Segundo Costa-Macedo *et al.* (1999), como as rotas de transmissão da ascariíase pressupõem contato com solo e/ou alimentos contaminados e dependem de um tempo para que os ovos eliminados pelo hospedeiro no ambiente tornem-se infectantes (geohelminths), é possível que a maior prevalência de *Enterobius vermicularis* deva-se à sua forma de transmissão, fecal-oral direta, pois já elimina ovos embrionados.

Muniz-Junqueira e Queiróz (2002) realizaram pesquisa em Brasília - DF e não constataram a presença de *Ancilostomídeo* em crianças menores de seis anos, afirmando que é uma parasitose com prevalência mais elevada em adultos. De fato, na amostra estudada, encontrou-se apenas duas crianças com *Ancilostomídeo* (0,2%).

Outros parasitas estiveram presentes em um número muito pequeno de crianças ou estiveram ausentes em crianças menores de um ano. Isto deve estar relacionado à hipótese de Carlier & Truyens (1995) que sugerem o envolvimento de respostas imunológicas em filhos de mães imunes com uma proteção inicial contra a infecção por conta da transferência de anticorpos maternos. A ocorrência de parasitis-

mo em menores de um ano pode refletir um elevado grau de contaminação dos ambientes peri e domiciliar nesse local, resultante das precárias condições de saneamento básico existentes (Costa-Macedo *et al.*, 1999) o que não foi observado na população estudada na região de Presidente Prudente.

Neste estudo, *Strongyloides stercoralis* foi um parasita encontrado em apenas 2 crianças. Ferreira *et al.* (2000) relataram a ausência de *Strongyloides stercoralis* em trabalhos realizados em 1995-96.

Com relação à associação de parasitas, a mais freqüente foi entre *Giardia lamblia* e *Entamoeba coli* (0,9%), seguida de *Entamoeba coli* / *Endolimax nana* (0,7%). Ferreira *et al.* (2000) citam também um decréscimo do número de crianças com duas ou mais espécies de parasitas (de 13,1% para 0,5%) e não verificaram crianças parasitadas por três ou mais parasitas, embora tenhamos encontrado em proporções reduzidas, a presença de crianças com três parasitas.

A associação da variável idade e diagnóstico mostrou que o parasita mais freqüente, *Giardia lamblia*, teve uma prevalência mais elevada em crianças de 1 a 4 anos, porém, não ocorrendo em crianças menores de um ano. Costa-Macedo & Rey (2000) citam a importância do leite materno na diminuição do parasitismo infantil. Em estudos *in vitro* com leite humano, foi identificada uma enzima com atividades giardicidas, levando-se a sugerir que medidas de incentivo ao aleitamento natural sejam instruídas como contribuição no controle das enteroparasitoses nos lactentes. Em relação à idade, os resultados encontrados foram semelhantes aos descritos na literatura, fato geralmente atribuído à falta de hábitos de higiene e/ou ausência de imunidade à reinfeção (Rocha *et al.*, 2000; Goia, 1992; Guimarães & Sogayar, 1995; Kobayashi, 1995).

Segundo Costa-Macedo *et al.* (1999), os níveis crescentes da prevalência por idade observados nas crianças devem estar relacionados ao processo de crescimento e desenvolvimento infantil, o que aumenta a mobilidade e a interação com o ambiente, além do aumento do tempo de exposição às condições ambientais. Esses dados coincidem com os resultados deste estudo.

Das crianças que constituíram a amostra, a *Giardia lamblia* foi o protozoário com prevalência mais elevada e, dessas crianças, a maioria respondeu não apresentar nenhum sintoma, o que coincide com a opinião de outros estudiosos que afirmam que a giardíase é assintomática na maioria dos casos. Dentre as queixas citadas, a mais freqüente foi a diarreia que é um dos sintomas da doença.

É interessante notar que o segundo protozoário mais freqüente foi *Entamoeba coli*. Sendo ele um comensal, não provoca danos ao hospedeiro e conseqüentemente não apresenta nenhum sintoma. Das 39 crianças que apresentaram este parasita, 32 não relataram nenhum sintoma, coincidindo com os relatos da maioria dos autores. O mesmo ocorreu com *Endolimax nana*, o terceiro protozoário mais freqüente, também um enterocomensal.

Quanto ao helminto mais freqüente, *Enterobius vermicularis* (19), a maioria (14), respondeu não apresentar nenhum sintoma (tabela 2). Esse fato coincide com a literatura, pois é na maioria das vezes, assintomática; o indivíduo só nota que alberga o parasita quando sente um prurido anal, principalmente à noite.

A associação mais freqüente, entre *Giardia lamblia* e *Entamoeba coli*, foi verificada em nove crianças; sete crianças, responderam não apresentar sintoma, reforçando a teoria que a giardíase é assintomática. A segunda associação

mais freqüente foi entre *Entamoeba coli* e *Endolimax nana* verificada em 7 crianças, ambos enterocomensais, sendo que 6 dessas crianças não apresentaram sintomas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apontaram, entre crianças de 0 a 12 anos residentes na cidade de Presidente Prudente – SP, uma prevalência de 21,3%. A idade de 1 a 4 anos foi a que concentrou o maior número de casos.

Giardia lamblia foi o parasita mais freqüente, em crianças entre 1 e 4 anos. Entre as crianças parasitadas, 23% destas apresentaram algum sintoma e o mais freqüente foi a diarreia.

A maioria das crianças apresentou monoparasitismo e a *Giardia lamblia* foi o parasita mais freqüente. Nas crianças com poliparasitismo a associação mais freqüente foi *Giardia lamblia* / *Entamoeba coli*.

REFERÊNCIAS

- 1 - AMATO NETO, V.; CAMPOS, R.; FERREIRA, C.S., 1963. Diagnóstico das parasitose intestinais pelo exame de fezes. São Paulo: Editora Atheneu.
- 2 - BRAGA, L. L.; LIMA, A. A.; SEARS, C. L.; NEWMAN, R. D.; WUHIH, T.; PAIVA, C. A.; GUERRANT, R. L.; MANN, B. J., 1996. Soepidemiology of *Entamoeba histolytica* in a slum in northeastern Brazil. *American Journal Tropical Medicine Hygiene*, 55:693-697.
- 3 - CANCRINI, G.; BORTOLONI, A.; PARADISE, F.; NUNES, L. E., 1989. Parasitological observations on the three Bolivian localities including rural communities, cities and institutions. *Annal Tropical Medicine Parasitology*, 83:591-594.
- 4 - CARLIER, Y.; TRUYENS, C., 1995. Influence of maternal infections of offspring resistente towards parasites. *Parasitology Today*, 11:94-99.
- 5 - COSTA-GURGEL, M. S.; NUNES, M. P. O.; NUNES, J. F. L.; SILVA, E. M. A., 1992. Prevalência de enteroparasitoses em Natal: rotina coprocópica da parasitologia clínica – UFRN. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 24:103-107.
- 6 - COSTA-MACEDO, L. M.; COSTA, M. C.; ALMEIDA, L. M., 1999. Parasitismo por *Ascaris lumbricoides* em crianças de dois anos: estudo populacional em comunidade do Rio de Janeiro. *Caderno de Saúde Pública*, 15:173-178.
- 7 - COSTA-MACEDO, L. M.; REY, L., 2000. Aleitamento e parasitismo intestinal materno-infantil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 33:371-375.
- 8 - FERREIRA, M. U.; FERREIRA, C. S.; MONTEIRO, C. A. Tendência circular das parasitoses intestinais na infância na cidade de São Paulo (1984-1996). *Rev. Saúde Pública*, v. 34, n. 6 s, p. 73-83, 2000.
- 9 - GOIA, I., 1992. Prevalência de enteroparasitoses intestinais entre os usuários do Centro de Saúde do distrito de Sousas, Campinas, SP (1986-1990). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical São Paulo*, 25:177-182.
- 10 - GUIMARÃES, S.; SOGAYAR, M. I., 1995. Occurrence of *Giardia lamblia* in children of municipal day-care centers from Botucatu, São Paulo state, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical São Paulo*, 37:501-506.
- 11 - IXTA-RODRIGUES, O.; FUENTE, G. L.; RODRIGUES-GARCIA, G.; POMPA, M. B., 1993. Frecuencia de parásitos intestinais y bacterias productoras de diarreia en niños de un hospital de zona. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*, 35:137-142.
- 12 - HOFFMAN, W.; PONS, J. L.; JANER, J. L., 1934. The sedimentation – concentration methos in *Shchistosoma mansoni* Puerto Rico. *Journal of Public Health*, 283-291.
- 13 - JEKEL, J. F.; ELMORE, J. G.; KATEZ, D. L., 1999. Epidemiologia, bioestatística e medicina preventiva. Porto Alegre: Artes Médicas Sul.
- 14 - JOKIPII, A. M. M.; JOKIPII, L., 1977. Prepatency of giardiasis. *Lancet*, 21:1095-1097.
- 15 - KOBAYASHI, J.; HASEGAWA, H.; FORLI, A. A.; NISHIMURA, N. F.; YAMANAKA, A.; SHIMBUKURO, T.; SATI, Y., 1995. Prevalence of intestinal parasitic infection in five farms in Holambra, São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical S. Paulo*, 37:13-18.
- 16 - LA VIA, W. V., 1994. Parasitic gastroenteritis. *Pediatric annals*.23: 556-560.

- 17- MACHADO, R. C.; MARCARI, E. L.; CRISTANTE, S. F. V.; CARARETO, C. M. A., 1999. Giardíase e helmintíase em crianças de creches e escolas de primeiro e segundo graus (públicas e privadas) da cidade de Mirassol (SP, Brasil). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical São Paulo*, 32:697-704
- 18- MUNIZ-JUNQUEIRA, M. I.; QUEIRÓZ, E. F. O., 2002. Relationship between protein-energy malnutrition, vitamin A and parasitosis in children living in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 35:133-141.
- 19- NAZER, H.; GREER, W.; DONNELLY, K.; MOHAMED, A. E.; YAISH, H.; KAGALUAL, A.; PAVILLARD, R., 1977. The need for three stool specimens in routine laboratory examinations for intestinal parasites. *Canadian Medical Association Journal*, 47: 76-79.
- 20- PEREZ, A.C.; AREZA, A. C.; UELBA, O. J.; GUEVARA, B. D. C.; ROJAS, A. M.; LOZANBO, S. C., 1997. Epidemiology of children's intestinal parasitism in the Guadalquivir Valley, Spain. *Revista Española. Salud Publica*, 71: 547-552.
- 21- ROCHA, R. S.; SILVA, J. G.; PEIXOTO, S. V.; CALDEIRA, R. L.; FIRMO, J. O. A.; CARVALHO, O. S.; KATZ, N., 2000. Avaliação da esquistossomose e de outras parasitoses intestinais, em escolares do município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 35:431-436.
- 22- SAWITZ, W. G.; FAUST, E. C., 1942. The probability of detecting intestinal protozoa by successive stool examinations. *American Journal of Tropical Medicine*, 22:131-136.
- 23- STENDEL, M.; BARREIROS, J. T.; PAPP, K. M. Promovendo Saúde na Vila Aparecida – Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina. Disponível em: <<http://www.saudebrasilnet.com.br/trabalhos/trabalho63.asp>>. Acesso em: 03 abr. 2002.
- 24- STEPHENSON, L. S., 1994. Los Helmintos importante factor de malnutrición. *Foro Mundial de Salud*, 15:184-187.
- 25- THOMPSON, R. C. A.; REYNOLDS, J.A.; MENDIS A.H.W. Giardiasis and giardiasis. *Adv. Parasitol.*, v.12 p.71-160, 1993.
- 26- TSUYUOKA, R.; BAILEY, J. W.; GUIMARÃES, A. M. A. N.; GURGEL, R.; RUIVAS, L. E., 1999. Anemia and intestinal parasitic infections in primary school students in Aracaju, Sergipe, Brazil. *Caderno de Saúde Pública*, 15:413-421.
- 27- UNICEF (Fundo das Nações Unidas para a Infância) 1998. Situação mundial da infância, 1998. Brasília: UNICEF
- 28- VALLADA, E. P., 1988. Manual de Exame de Fezes Coprologia e Parasitologia. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu.

Endereço para correspondência

Dra. Nair Toshiko Tashima

Rua José Alfredo da Silva, 1332 - Jardim Paulista

CEP: 19.023-210 - Presidente Prudente - SP

E-mail: ntashima@muranet.com.br

Título de Especialista em Análises Clínicas

O que é e como obtê-lo?

O TEAC – Título de Especialista em Análises Clínicas, é um documento outorgado pela SBAC – Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, em qual somente os profissionais que exercem as Análises Clínicas, e que sejam legalmente habilitados para assumirem a responsabilidade técnica por Laboratórios Clínicos, de acordo com a legislação federal vigente no país, é que podem prestar o Concurso para obter o Certificado do Título de Especialista em Análises Clínicas.

Para se inscrever no concurso do TEAC, os candidatos deverão solicitar o regulamento e ficha de inscrição à SBAC Nacional ou nas Regionais/Delegacias, por fax, telefone, e-mail, carta ou pessoalmente.

Condições para inscrição no Concurso do TEAC:

- Os candidatos habilitados a prestarem o Concurso são: Farmacêutico-bioquímico, Médico e Biomédico.
- Ser sócio da SBAC efetivo e estar em dia com os seus deveres estatutários.
- Preencher ficha de inscrição, colocando quais as matérias de peso 03 e 02.
- 3.1 O candidato obrigatoriamente terá que escolher as matérias de peso 03 e 02, a peso 03 deverá ser a matéria de maior conhecimento do candidato, e peso 02 a Segunda matéria de maior conhecimento do candidato, as outras matérias contarão como peso 01.
- Pagar taxa de inscrição do concurso.
- Para os inscritos no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, haverá desconto de 50% na taxa de inscrição do Concurso do TEAC.
- Após estes procedimentos, o candidato tem direito de receber o Programa do Concurso (impresso ou em disquete).

As Disciplinas:

1 – De acordo com o Programa o Candidato é avaliado pela Banca Examinadora do Concurso, no qual terá que ser aprovado nas seguintes Especialidades das Análises Clínicas:

- Bioquímica Clínica;
- Hematologia Clínica;
- Imunologia Clínica;
- Microbiologia Clínica;
- Parasitologia Clínica.

2 – O conteúdo programático do Controle da Qualidade e da Segurança, é aplicado a essas disciplinas.

3 – Excepcionalmente o candidato também poderá ter como opção a matéria de Citologia Esfoliativa, sendo obrigatoriamente a primeira opção. Neste caso, o candidato também terá que se inscrever no Concurso para obtenção do TECC - Título de Especialista em Citologia Clínica, pela SBCC – Sociedade Brasileira de Citologia Clínica, sendo aprovado receberá o certificado pela SBCC.

4 – Tendo sido aprovado no Concurso para obtenção do TECC, e no Concurso para obtenção do TEAC, o Certificado do Título de Especialista em Análises Clínicas, terá o apostilamento em Citologia Esfoliativa no verso do Certificado.

5 – Não tendo sido aprovado no Concurso para obtenção do TECC, e sendo aprovado no Concurso do TEAC, o candidato terá o Certificado do Título de Especialista em Análises Clínicas, sem o apostilamento em Citologia Esfoliativa.

6 – Os portadores do Título de Especialista em Análises Clínicas, que se submeterem à prova para obtenção do TECC, pela SBCC e forem aprovados, terão seus Títulos apostilados no verso a especialidade de Citologia Esfoliativa.

As Provas:

O Concurso do TEAC é composto das Provas Escritas, Práticas de Conhecimento (dissertativa, Oral e Slide) e de Títulos (exercício profissional e atualização de conhecimentos).

Obs: a avaliação em Citologia pela SBCC, será Prova Escrita, Prática e Avaliação curricular.

Avaliação da Prova de Títulos a Outorga do TEAC:

Os Candidatos aprovados, terão que enviar num prazo máximo de 2 anos (de acordo com o Regulamento do TEAC), Curriculum Vitae e cópia de documentação comprobatória de exercício profissional e atualização de conhecimentos.

Validade do TEAC:

O TEAC é um documento que tem validade de 05 (cinco) anos, de acordo com o seu Regulamento. Sendo assim, após 5 (cinco) anos da data de outorga ou da data da última renovação do Título de Especialista o profissional terá que comprovar que continua exercendo a profissão e que se atualizou nos últimos cinco anos, enviando os documentos que somem 2.000 pontos de acordo com o Capítulo III – Da Avaliação, Artigo 8º, do Regulamento do TEAC.

O Portador do TEAC que, na renovação não atingir o valor de pontos determinado no Regulamento, poderá submeter-se as Provas de Conhecimentos, que serão avaliadas, de acordo com o item 1 do Artigo 8º.

Próximo Concurso do TEAC e TECC:

Os próximos Concurso para Outorga do Título de Especialista em Análises Clínicas e Concurso para outorga do Título de Especialista em Citologia Clínica será realizado durante o 32º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas e 5º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica, nos dias 22 e 26 de maio de 2005, em Goiânia – GO.

Para os inscritos no 32º congresso Brasileiro de Análises Clínicas e 5º congresso Brasileiro de Citologia Clínica, haverá um desconto de 50% nas inscrições.

Caso ainda não esteja inscrito no congresso, o interessado deverá fazê-lo até 30 dias antes do início do evento.

Informações gerais:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC

Tel/fax (0xx21) 2264-4449 e 2204-0245 ou e-mail: teac@sbac.org.br

Sociedade Brasileira de Citologia Clínica - SBCC

Tel/fax (0xx62) 229-0468 e 223-5661 ou e-mail: sbacgo@terra.com.br

Valores de referência de bioindicadores: avaliação estatística no caso do ácido hipúrico urinário*

Reference values of bioindicators: statistical evaluation in the case of the urinary hippuric acid

José Antônio Leite¹, Augusto Ramalho de Morais², Mário Javier Ferrua Vivanco² & Maria Elisa Pereira Bastos de Siqueira¹

RESUMO - Um procedimento eficiente para controlar o risco da exposição ocupacional a toxicantes é a biomonitorização dos trabalhadores. Para isso são imprescindíveis os valores de referência (VR) de bioindicadores na população não exposta ocupacionalmente ao xenobiótico. Fatores que diversificam acentuadamente o metabolismo do toxicante (gênero, idade, hábitos de vida, etc.) devem ser considerados na composição da amostra de referência de modo a permitir a análise de cada subgrupo (estrato). O tratamento estatístico dos dados deve definir a distribuição que melhor descreve os dados amostrais e identificar os subgrupos distintos com base nos valores determinados para o ácido hipúrico (AH) em urina, indicador da exposição ao tolueno, objetivo deste trabalho. Os VR foram obtidos de 181 voluntários e os resultados analisados estatisticamente. A distribuição exponencial foi a que melhor se ajustou aos dados (cerca de 91% de ajuste) e estes tiveram um valor médio de 0,246g AH/g de creatinina (0,21 - 0,29 g/g de creatinina de intervalo de referência). Não foram detectadas diferenças significativas nos níveis urinários de AH devidas a gênero, faixa etária, uso de tabaco ou de bebida alcoólica pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney e pelo teste qui-quadrado ($p \leq 0,05$).

PALAVRAS-CHAVE - valor de referência, tolueno, biomonitorização, avaliação estatística.

SUMMARY - An efficient procedure to control the risk of the occupational exposure to the toxicants is the workers' biomonitoring. Reference values (RV) of the bioindicators in occupationally nonexposed population are useful to results evaluation. The factors that modify the toxicant's metabolism (gender, age, life habits, etc.) must be considered in the analysis of the results. The statistical treatment of the data must define the distribution that better describes the RV as well as the influence or not of these values, objective of this research, taking into account the RV of hippuric acid in urine, bioindicator of toluene exposure. Reference values of hippuric acid were determined in 181 volunteers and the results were statistically examined. An exponential distribution was the better adjusted to the reference values (91% results). Mean and reference interval were, respectively, 0.246 g HA/g creatinine, and 0.21 - 0.29 g HA/g creatinine. Differences statistically significant in HA levels were not observed according to age groups, gender, smoking or drinking habits of the reference individuals.

KEYWORDS - Reference value, toluene, biomonitoring, statistic evaluation.

INTRODUÇÃO

Os valores de referência (VR) de um analito endógeno são valores das concentrações deste, obtidos de indivíduos saudáveis. Intervalo de referência é o conjunto da maioria desses valores, geralmente 95% deles, em torno da média. Um resultado laboratorial que esteja dentro desse intervalo indica o funcionamento normal dos órgãos.

Os valores de referência de um analito exógeno são valores das concentrações deste, obtidos de indivíduos saudáveis e não expostos ocupacionalmente ao toxicante. Um resultado laboratorial abaixo ou dentro desse intervalo indica que quem forneceu a amostra biológica não está exposto a níveis elevados do toxicante⁷.

De um resultado laboratorial que, comparado com os VR e com o Índice Biológico Máximo Permitido (IBMP)⁶, acusa exposição excessiva a certo agente tóxico, surge de imediato: a necessidade de tratamento clínico individual para prevenir intoxicações e suas seqüelas; motivo para estabelecer estratégias de controle ambiental; e oportunidade de pesquisa das doenças causadas por esses agentes^{5, 9, 12}.

Se ultimamente, por conscientização e por força das disposições legais, os níveis de exposição no ambiente de trabalho foram reduzidos, a poluição vem aumentando bastante no macroambiente. Disso resulta, principalmente nos grandes centros urbanos, menor diferença de exposição entre o local de trabalho e outros locais e a necessidade de uma definição mais criteriosa dos VR, capaz de acusar exposição a baixos níveis de toxicantes. Os métodos analíticos devem ser exatos e com baixos limites de quantificação de modo a permitir avaliar baixas concentrações do analito com precisão^{1, 12}.

O Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional (PCMSO), pela Norma Regulamentadora no 7 (NR-7), 1994⁶, preconiza o ácido hipúrico (AH) como bioindicador na monitorização de trabalhadores expostos ao tolueno, pois, apesar de não ser um metabólico específico do mesmo, apresenta excelente relação com os níveis ambientais desse solvente. Como a coleta da urina é realizada em trabalhador aparentemente sem intoxicação e desenvolvendo a sua atividade normal, só é possível obter amostras de uma única micção. Assim, a concentração do AH urinário pode ser afetada sensivelmente por vários fatores como:

Recebido em 21/06/2004

Aprovado em 20/09/2004

*1 Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas/Centro Universitário Federal (EFOA/CEUFE)

2 Universidade Federal de Lavras (UFLA)

atividade física, alimentação, sudorese, ingestão de líquidos (mormente os de efeito diurético), entre outros. Logo, esse procedimento requer a correção dos valores do AH urinário em g/L pela creatinina excretada (g AH/g creatinina), que ocorre com velocidade constante.

A mesma norma definiu os IBMP e os VR para diversas substâncias químicas. Para o caso do AH urinário, o IBMP é igual a 2,5 g/g de creatinina e o VR é $\leq 1,5$ g/g de creatinina. O IBMP é um valor de concentração acima do qual a exposição é considerada excessiva. Concentrações acima dos VR, indicam que o indivíduo está exposto, ainda que seja a níveis considerados seguros para os trabalhadores. A população de referência (sadia e não exposta ao toxificante) não é facilmente definida e o tamanho da amostra (n) não pode ser determinado com base no tamanho da população. Com o risco de utilizar dados de populações com características diversas recorre-se, às vezes, a valores encontrados na literatura¹². Amostra muito grande, que possa garantir com segurança a representatividade, no todo e nos possíveis subgrupos, implica em elevado custo financeiro no levantamento de dados, o que pode tornar impraticável a determinação dos VR. Como somente algumas distribuições clássicas permitem definir o tamanho da amostra com base no erro máximo permitido, restam, para definir o valor de n, apenas os recursos do bom senso e da parcimônia.

Todos os fatores que podem alterar a biotransformação do agente químico em estudo devem ser pesquisados. Se forem transitórios (ingestão excessiva de líquidos, dietas ricas em alimentos que contêm ácido benzóico, hepatopatis e nefropatias que alteram o metabolismo dos agentes químicos e interferem na eliminação dos mesmos, uso de medicamentos que alteram a excreção fisiológica do AH pela urina, etc.), um questionário permite selecionar apenas os indivíduos que atendam as condições pré-analíticas. Tratando-se de fatores permanentes (gênero, idade, uso de tabaco ou de bebida alcoólica, etc.), devem ser analisados como possíveis fatores de estratificação, podendo ter como ponto de partida os trabalhos similares realizados em outras regiões³.

A dificuldade citada na obtenção de uma amostra de tamanho suficiente e a estreita faixa experimental obtida na amostra de referência comprometem, muitas vezes, a opção por um procedimento estatístico adequado. O ajuste a uma distribuição clássica não fica bem definido e os tamanhos reduzidos dos subgrupos formados pelos possíveis fatores de estratificação não permitem conclusões seguras. Assim, trabalhos similares realizados no Brasil apresentam diversidade de tratamentos estatísticos. A distribuição exponencial de resultados de VR foi relatada por Alvarez-Leite *et al.*² e a distribuição normal foi verificada para os VR do ácido delta-aminolevulínico desidratase, na a região sul de Minas Gerais, por Siqueira *et al.*¹⁶. Para os VR do metanol em urina, na cidade de São Paulo, foi usada uma distribuição t de Student¹³. A avaliação de diferenças nos VR para os diversos subgrupos da população de referência também utiliza testes diversos, e nem sempre ajustados à distribuição unificada, a maioria sendo não paramétrica^{2,13}. Assim, objetivou-se neste trabalho avaliar estatisticamente valores de referência, com base nos valores do ácido hipúrico em urina, obtidos de população não exposta ocupacionalmente ao tolueno.

MATERIAL E MÉTODOS

A população de referência, da qual foi extraída a amostra aleatória, é a população do município de Alfenas, situado na região Sul do Estado de Minas Gerais – Brasil.

Coletaram-se 50mL de urina de 181 voluntários (67 homens e 114 mulheres) com idade entre 18 e 60 anos, saudáveis e não expostos ocupacionalmente ao tolueno. Todos eles responderam a um questionário para levantamento das características individuais, dos hábitos pessoais e das condições de trabalho, e se submeteram a alguns exames bioquímicos e hematológicos para comprovar o estado de sanidade declarado.

A análise de AH foi realizada por cromatografia gasosa utilizando detector de ionização de chama (CG/IC), segundo o método descrito por Alvarez-Leite *et al.* (1994)².

A análise dos fatores estratificantes consistiu em obter os intervalos para os subgrupos definidos por: gênero, idade, uso de tabaco (mais de 5 cigarros por dia) e uso de bebida alcoólica (mais de 20g de álcool por semana). A influência desses fatores foi feita pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

A avaliação estatística foi realizada utilizando os softwares SAS¹⁵ e SISVAR⁸.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os VR obtidos nesta pesquisa são válidos, não apenas para a cidade amostrada, mas para todo o sul do estado de Minas Gerais, cujas características ambientais, alimentares e industriais são semelhantes, uma vez que o custo elevado deste tipo de determinação inviabiliza o seu estabelecimento para cada município.

O intervalo experimental das concentrações de AH, em g/g de creatinina, foi de 0,01 a 1,45. A Tabela 1 mostra as concentrações médias da amostra total e dos subgrupos.

TABELA I

Médias das concentrações de ácido hipúrico urinário da amostra total e dos subgrupos, em g/g de creatinina.

Categoria	Total	Gênero		Idade		Uso de tabaco		Beb. alcoólica	
		Fem.	Masc.	< 39a	39a ≥	Não	Sim	Não	Sim
n ^o pessoas	181	114	67	89	92	136	45	106	75
média	0,24 6	0,23 0	0,27 4	0,228	0,264	0,235	0,279	0,210	0,29 6

O teste qui-quadrado indicou que, a 5% de significância, essas médias não diferem entre si: $\chi_e^2 = 0,023 < 15,507 = \chi_{8g,1,5\%}^2$. O teste de Wilcoxon-Mann-Whitney apresentou, para o nível de 5% de significância, os mesmos resultados, como mostra a Tabela 2.

TABELA II

Resultados do teste qui-quadrado para os subgrupos

Subgrupo	Resultado
Faixa etária (< 39 anos e ≥ 39 anos)	$z_e = 0,86 < 1,96 = z_c$
Gênero	$z_e = 1,04 < 1,96 = z_c$
Uso de tabaco	$z_e = 1,24 < 1,96 = z_c$
Uso de bebida alcoólica	$z_e = 1,96 = 1,96 = z_c$

O valor médio da concentração de AH, de 0,246 g/g de creatinina, foi inferior ao relatado por Alvarez-Leite *et al.* (1994)² para a população de Belo Horizonte, de 0,42 g/L, o que era esperado, visto ser esta a segunda região metropolitana do País, conseqüentemente bem mais poluída que a população de referência deste trabalho.

O Box-Plot (Figura 1) mostra que nenhum dos subgrupos gerados pelos fatores supra citados apresenta diferença significativa (as caixas dos subgrupos se superpõem quase por inteiro), não justificando a estratificação. Evidencia ainda acentuada assimetria à direita, indicada pela média maior que a mediana e pelo retângulo superior maior que o inferior.

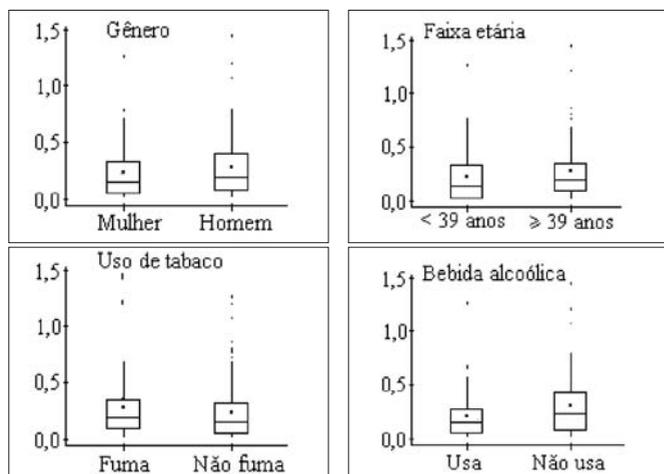


FIGURA 1 - Box-Plot da concentração de ácido hipúrico, em g/g de creatinina, dos subgrupos: gênero, idade, uso de tabaco e de bebida alcoólica.

Não havendo diferenças significativas entre os valores dos subgrupos definidos por um dado fator, a estratificação correspondente foi descartada. Verificou-se esses valores se distribuem e qual distribuição pode ser usada para avaliá-los.

A ausência de diferenças significativas entre os subgrupos definidos pelo uso de tabaco e/ou de bebida alcoólica foi também verificada por Alvarez-Leite *et al.* (1999)⁴.

A não normalidade dos dados pode ser visualizada pelo histograma (Figura 2) e confirmada pelo teste Shapiro-Wilk¹⁴ cuja estatística foi de 0,795884 com $p < 0,0001$.

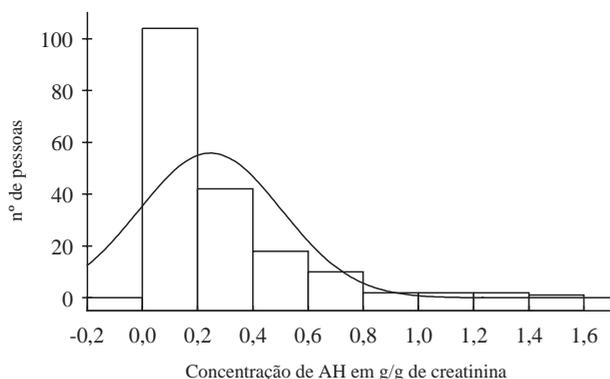


FIGURA 2 - Histograma da concentração de AH (g/g de creatinina) com a curva normal

Investigando se alguma distribuição clássica descreve de modo satisfatório os dados originais, verificou-se que esses se ajustam adequadamente a uma distribuição exponencial com estimativa do parâmetro $\lambda = 0,24663$, o que foi confirmado pelo teste de aderência do qui-quadrado, com uma probabilidade de 0,91416. A Figura 3 visualiza esse ajuste, com muitos valores baixos e poucos altos, caracterizando uma assimetria à direita.

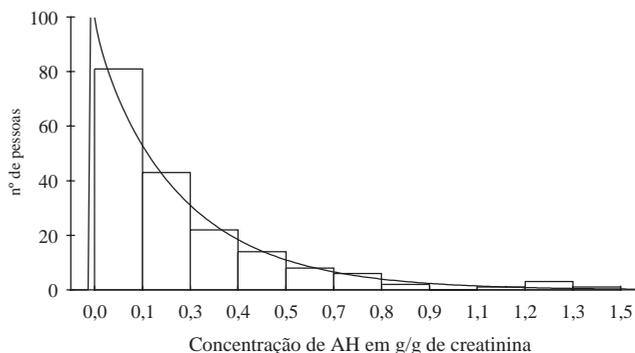


FIGURA 3 - Histograma das concentrações de AH e a distribuição exponencial.

Logo, o intervalo de referência do AH urinário, para a população de referência, é o intervalo de confiança para a média da distribuição exponencial. Assim, esse intervalo, avaliado para a região de Alfenas, com 95% de confiança, foi de 0,21 a 0,29 g/g de creatinina, obtido conforme Mood *et al.*¹¹.

É importante em Saúde Ocupacional o uso do limite superior do intervalo de referência (0,29 g/g de creatinina), mais facilmente entendido por médicos e/ou higienistas do trabalho. Indivíduo com concentração acima desse valor é suspeito de estar exposto, ainda que a baixos níveis do tóxico.

CONCLUSÃO

Os valores de referência (VR) para o ácido hipúrico urinário, expressos em g/g de creatinina, não foram influenciados por gênero, idade, uso de tabaco ou de bebida alcoólica dos voluntários, não sendo necessário, portanto, considerar estas variáveis quando da aplicação destes valores na monitorização de trabalhadores expostos ao tolueno.

A definição prévia do tipo de distribuição dos VR é importante para se estimar corretamente o intervalo de referência, pois, principalmente o valor superior deste intervalo é bastante usado na prática da Saúde Ocupacional.

Os resultados obtidos, inferiores aos dos grandes centros urbanos, são justificados pelas condições climáticas da região de Alfenas, que é encimada por uma atmosfera isenta de poluição de origem agro-industrial. Essa diferença de resultados ressalta a importância de estimar VR para uso estritamente regional.

Esse intervalo de referência, de 0,21 a 0,29 g/g de creatinina, é importante para monitorizar a exposição ao tolueno, pois, na sua estimativa foram considerados fatores ambientais, sociais e individuais.

REFERÊNCIAS

1. Alessio *et al.* Proceedings of the workshop "From macro to microdoses: reference values for toxic metals". Monticelli Brusati, Brescia. Science of the Total Environment, Amsterdam, v.120, p.13-15, 1990.
2. Alvarez-Leite, E. M. *et al.* Determination of urinary hippuric acid by gas-chromatography after derivatization with trimethylphenylammonium hydroxide. Toxicologia, v.6, p.3-6, 1994.
3. Alvarez-Leite, E. M. *et al.* Valores de referência do ácido hipúrico na região metropolitana de Belo Horizonte. Revista Brasileira de Análises Clínicas, Rio de Janeiro, v.30, p.188-190, 1998.
4. Alvarez-Leite, E.M. *et al.* Possible effects of drinking and smoking habits on hippuric acid levels in urine of adults with no occupational toluene exposure. Journal of Occupational Health 1999; v.41, p.112-4.
5. Apostoli, P. Reference values for xenobiotics in biological matrixes: the state of the art. G Italia. Medicina del Lavoro, Milano, v.16, n.1, p.19-24, 1994.
6. Brasil, Ministério do Trabalho. Seção de Relação do Trabalho. Portaria no 24, de 29 de dezembro de 1994. Diário Oficial, 30 Dez. 1994. Seção 1, p. 21278.
7. Dybaer, R. The theory of reference values, part.6. Clinical Chimists Acta, Amsterdam, v.127, p.441F-448F, 1983.
8. Ferreira, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows® versão 4. 0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45., 2000, São Carlos, SP. Programas e Resumos. São Carlos: UFSCar, 2000. p. 235.
9. Kucera, J.; *et al.* Review of trace element in blood, serum and urine in Czech and Slovak population and critical evaluation of their possible use as reference values. Science Total Environmental, Amsterdam, v.66, n.1/3, p.211-234, 1995.
10. Minoia, C. *et al.* Trace element reference in tissues from inhabitants of the European Community. I. A study of 46 elements in urine, blood and serum of Italian subjects. Science Total Environm, Amsterdam, v. 95, p. 89-105, 1990.
11. Mood, A.M. *et al.* Introduction to the theory of statistic. Irvine, Califórnia: McGraw-Hill Kogakusha, 1974.
12. Odone, P. *et al.* Limiti di riferimento: presupposto indispensabile al monitoraggio biológico. Milão: Franco Angeli, 1988. p.163-173.
13. Passarelli, M.M. *et al.* Methanol reference values in urine from inhabitants of Brazil. The Science of the Total Environment. 243/244. 1999, p.349-352.
14. Shapiro, S. S. *et al.* An analysis of variance test for normality (Complete sample). Biometrika, London, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, Dec. 1965
15. SAS,INSTITUTE. SAS Procedures guide for computers. 6 ed. Cary, NC, 1999. v. 3, 373 p.
16. Siqueira, M.E.P.B. *et al.* Delta-Aminolevulinic Acid Dehydratase Activity in the General Population of Southern Minas Gerais, Brazil. Industrial Health, 2003. v.41, p.19-23.

Endereço para correspondência

José Antônio Leite.

Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas/Centro Universitário Federal – EFOA/CEUFE – Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714 – Centro – ALFENAS – MG CEP: 37130.000

Tels.: (0XX35) 3299-1260

e-mail: leite@efoa.br



XXXII Congresso Brasileiro de Análises Clínicas V Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

22 a 26 de maio de 2005

Centro de Convenções de Goiânia
Goiânia - GO

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Culturas de pontas de cateteres venosos centrais e perfil de resistência aos antimicrobianos de uso clínico

Central venous catheter tip cultures and resistance pattern of antimicrobial of clinical use

Regina Mariuza Borsato Quesada ; Floristher Elaine Carrara¹; Cláudia Ross ; Leandro Augusto Calixto ; Lígia Maira dos Santos Rogeri³ & Jacinta Sanches Pelayo

RESUMO - Neste estudo foram avaliadas, retrospectivamente, 604 culturas de pontas de cateteres provenientes de pacientes hospitalizados, para determinar os microrganismos mais frequentemente isolados e estabelecer o perfil de resistência aos antimicrobianos. Foi utilizada a técnica de cultura semiquantitativa de Maki. A identificação dos isolados e a determinação de susceptibilidade foram realizadas através de provas bioquímicas convencionais e sistema automatizado. Foram positivas 42,7% das culturas avaliadas, com maior frequência em pacientes do sexo masculino (54,3%) e menores de um ano de idade (38,3%). Os microrganismos mais isolados foram Estafilococos coagulase-negativa-ECN (33,7%), *Staphylococcus aureus* (20.3%), *Acinetobacter baumannii* (9.4%), *Pseudomonas aeruginosa* (8.3%) e *Klebsiella pneumoniae* (6.7%). Altas taxas de resistência a oxacilina foram verificadas em ECN e *S. aureus* e todos os isolados Gram-positivos foram susceptíveis a vancomicina. Nos bacilos Gram-negativos, como em *K.pneumoniae*, verificou-se alta taxa de resistência à cefalosporinas de terceira geração e aminoglicosídeos. A resistência ao imipenem foi de 48,3% e 9,7% para *P. aeruginosa* e *A.baumannii*, respectivamente. Os isolados de *A.baumannii* mostraram 55% de resistência à ampicilina-sulbactam e 38% de *P.aeruginosa* mostraram resistência à piperacilina-tazobactam.

PALAVRAS-CHAVE - Cateter vascular central, cultura semiquantitativa, estafilococos coagulase-negativa, resistência antimicrobiana.

SUMMARY - In this study were evaluated, retrospectively, 604 cultures of catheter tips from hospitalized patients, to determine the most frequent microorganisms isolated and to establish their drug-resistance patterns. The semiquantitative culture technique described by Maki was utilized. The identification of the isolates and determination of susceptibility were carried out using conventional biochemical proofs and an automated system. A total of 42.7% of the cultures were positive with greater frequency in males (54.3%) and patients under one year old (38.3%). The most common organisms isolated were coagulase-negative Staphylococci-CNS (33.7%), *Staphylococcus aureus* (20.3%), *Acinetobacter baumannii* (9.4%), *Pseudomonas aeruginosa* (8.3%) and *Klebsiella pneumoniae* (6.7%). CNS and *S.aureus* showed high resistance rates to oxacilin and all the Gram-positive isolates were susceptible to vancomycin. The high resistance to the third-generation cephalosporins and aminoglycosides occurred in Gram-negative bacilli, like *K.pneumoniae*. The resistance to imipenem was 48.3% and 9.7% to *P.aeruginosa* and *A. baumannii*, respectively. Fifty-five percent of *A.baumannii* were resistant to ampicillin-sulbactam and 38% of *P.aeruginosa* showed resistance to piperacillin-tazobactam.

KEYWORDS - Central venous catheter, semiquantitative culture, coagulase-negative staphylococci, antimicrobial resistance.

INTRODUÇÃO

A utilização de cateteres intravasculares visa facilitar o diagnóstico e o tratamento do paciente hospitalizado, permitindo a administração de medicamentos, soluções endovenosas, hemoderivados, nutrição parenteral, além do monitoramento hemodinâmico. No entanto, o uso desses dispositivos oferece riscos de colonização no local de inserção e /ou infecção sistêmica, sendo a sepse, a mais grave complicação deste procedimento. Ambos os casos dependem da natureza do cateter utilizado, do tempo de cateterização e permanência do cateter, da presença de fatores de risco, assim como da experiência da equipe de saúde (COUTO *et al.*, 1999; FILLIPIN *et al.*, 2002).

Vale ressaltar que os principais fatores de risco relacionados à infecção por cateteres venosos centrais (CVC) estão associados com: o local de inserção, o material que é constituído, a presença de múltiplos lumens, a repetição do cateterismo, o tipo de curativo utilizado, a presença de infecção em outro foco, os microrganismos envolvidos na co-

lonização do cateter, e o sistema imune do próprio paciente (DIENER *et al.*, 1996; COUTO *et al.*, 1999).

O processo infeccioso depende da eficiência com que o microrganismo consegue colonizar a pele, causar alterações patológicas no sítio de inserção e disseminar-se para a corrente sanguínea ou a uma nova área. Deve-se considerar que ocorre um aumento do risco de infecção em pacientes imunocomprometidos por estados clínicos graves, em portadores de doenças de base e em extremos de idade (JARVIS, 1996).

A avaliação diagnóstica das infecções relacionadas ao uso de cateteres baseia-se em sinais clínicos inflamatórios locais como calor, edema, eritema, dor e exsudato; e sistêmicos como febre, tremores, hipotensão e taquicardia, os quais devem estar associados ao cultivo da ponta de cateter (CPC) e hemoculturas positivas. A definição dos critérios laboratoriais para o diagnóstico de infecção relacionada ao cateter, utilizada em estudos clínicos, segue a técnica de Maquia *et al.* (1977), onde os autores baseiam-se na presença de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) iguais

Recebido em 03/05/2004

Aprovado em 18/08/2004

1 Docente do Departamento de Patologia Clínica e Toxicológica – UEL.

2 Doutoranda em Microbiologia – UEL.

3 Acadêmicos de Farmácia – UEL.

4 Coordenadora do Programa de Mestrado/Doutorado em Microbiologia – UEL. UEL – Universidade Estadual de Londrina-PR.

ou superiores a 15 para ser sugestivo de infecção, enquanto que o número de UFC inferior a 15 é sugestivo de colonização (BEGHETTO *et al.*, 2002).

O critério para o diagnóstico usualmente empregado requer a remoção da ponta do cateter para realização de cultura e somente 15 a 25% dos cateteres removidos por suspeita de infecção estão realmente infectados. O diagnóstico definitivo é estabelecido quando o cateter é significativamente colonizado e a confiabilidade da cultura depende da técnica empregada. A cultura semiquantitativa da ponta de cateter rolado em placa é o método mais simples e mais freqüente, existindo vários estudos comparando sua importância (MOYER *et al.*, 1983; COLLIGNON *et al.*, 1986; BONE *et al.*, 1998; FILLIPIN *et al.*, 2002).

Vários pesquisadores observaram que os principais agentes Gram-positivos causadores de infecção relacionada a cateter (IRC) são: *Staphylococcus aureus* e *Estafilococos coagulase negativa* (ECN). Estes microrganismos são provenientes da própria pele do paciente, como microbiota da área de inserção do cateter, ou veiculado pela equipe de saúde. (COLLIGNON *et al.*, 1986; BRUN-BUISSON *et al.*, 1987; SHERERTZ *et al.*, 1990; DIAS, 1997; NNIS, 2001; BEGHETTO *et al.*, 2002; O'GRADY *et al.*, 2002).

Os bacilos Gram-negativos envolvidos neste tipo de infecção seriam originários do próprio ambiente hospitalar, através da seleção de cepas por utilização excessiva de antimicrobianos de largo espectro e por infecções cruzadas. Estão entre os principais agentes: *Acinetobacter sp.*, *Serratia sp.*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas sp.*, e *Stenotrophomonas maltophilia* (ELTING e BODEY, 1990; SEIFERT *et al.*, 1993; TRAUB *et al.*, 2000; DUNNE, 2002). O presente estudo teve como objetivos, determinar os microrganismos mais freqüentemente isolados em CVC e estabelecer o perfil de resistência destes aos principais antimicrobianos de uso clínico.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo que incluiu 604 culturas de pontas de cateteres venosos centrais, provenientes de pacientes internados no Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná (HURNP), no período de Janeiro de 2001 a Dezembro de 2003.

Os segmentos distais dos CVC enviados ao Laboratório de Microbiologia Clínica do HURNP foram cultivados usando a técnica semiquantitativa de Maki *et al.* (1977). Após 24-48h de incubação, todas as placas foram avaliadas para o crescimento de microrganismos e consideradas positivas as culturas que apresentaram contagem ≥ 15 UFC.

A identificação dos microrganismos isolados foi realizada através de provas bioquímicas convencionais ou pelo sistema automatizado MicroScan- WalkAway® – (Dade-Behring, West Sacramento- Ca, EUA). Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos foram realizados pela técnica de difusão em disco (BAUER e KIRBY, 1966) e pelo método de microdiluição automatizada. Foram testados os principais antimicrobianos padronizados no HURNP para o tratamento das infecções sistêmicas, e os resultados interpretados de acordo com os critérios recomendados pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2001-2002).

RESULTADOS

De um total de 604 CPC avaliadas, 258 (42,7%) foram positivas (crescimento ≥ 15 UFC). Uma maior freqüência de culturas positivas foi verificada no sexo masculino (54,3%) e em pacientes menores de um ano (38,3%).

TABELA I - Microrganismos isolados por cultivo semiquantitativo de 604 pontas de cateteres venosos centrais.

Microrganismos	Percentual (%)
<i>Estafilococos coagulase-negativa</i>	33.7
<i>Staphylococcus aureus</i>	20.3
<i>Acinetobacter baumannii</i>	9.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8.3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6.7
<i>Enterobacter cloacae</i>	3.3
<i>Candida sp.</i>	3.0
<i>Candida albicans</i>	2.2
<i>Serratia marcescens</i>	1.7
<i>Enterococcus faecalis</i>	1.4
<i>Proteus mirabilis</i>	1.1
<i>Escherichia coli</i>	0.8
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0.8
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.8
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	0.8
<i>Candida krusei</i>	0.6
<i>Acinetobacter sp..</i>	0.6
<i>Moraxella sp..</i>	0.6
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.6
<i>Burkholderia cepacia</i>	0.6
<i>Citrobacter freundii</i>	0.3
<i>Citrobacter koseri</i>	0.3
<i>Morganella morganii</i>	0.3
<i>Pseudomonas sp.</i>	0.3
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0.3
<i>Enterococcus faecium</i>	0.3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0.3
<i>Streptococcus grupo milleri</i>	0.3
<i>Streptococcus grupo viridans</i>	0.3
Total	100,0

A tabela 1 apresenta os microrganismos isolados nas CPC. *Estafilococos coagulase negativa* (33,7%), seguido de *Staphylococcus aureus* (20,3%), *A.baumannii* (9,4%) foram mais freqüentemente observados. Outros microrganismos ocorreram em menor número nestas culturas.

O perfil de resistência apresentado pelos isolados de ECN e *S.aureus* aos principais antimicrobianos de uso clínico foi: penicilina (96,9 e 98,3%), oxacilina (93,3 e 66,1%), gentamicina (86,1 e 65,4%), eritromicina (84,6 e 84,1%) e ciprofloxacina (80,0 e 70,8%), respectivamente. Quanto à vancomicina, nenhum microrganismo apresentou resistência. Estes dados estão dispostos na figura 1.

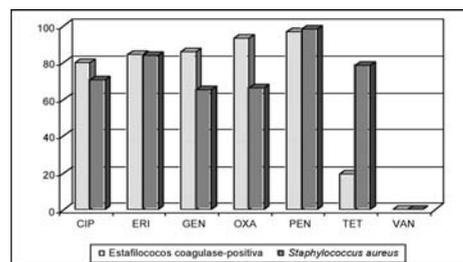


FIG. 1 - Distribuição em percentagem da resistência de cocos Gram-positivos a antimicrobianos: ciprofloxacina (CIP), eritromicina (ERI), gentamicina (GEN), oxacilina (OXA), penicilina (PEN), tetraciclina (TET) e vancomicina (VAN).(CIP), eritromicina (ERI), gentamicina (GEN), oxacilina (OXA), penicilina (PEN), tetraciclina (TET) e vancomicina (VAN).

O padrão de resistência apresentado por *A.baumannii*, *P.aeruginosa* e *K.pneumoniae* frente aos principais antimicrobianos de uso clínico foi: amicacina (77,4%, 75,0% e 21,7%); cefotaxima (57,1%, 96,6% e 85,0%); ceftazidima (87,9%, 63,3% e 85,7%); gentamicina (80,6%, 75,0% e 87,0%), respectivamente. Para imipenem, *A.baumannii* e *P.aeruginosa* apresentaram 9,6% e 48,3% de resistência, respectivamente, enquanto que os isolados de *K.pneumoniae* foram totalmente susceptíveis. Para ampicilina-sulbactam isolados de *A.baumannii* apresentaram 55,0% de resistência. Frente a piperacilina-tazobactam *P.aeruginosa* apresentou uma taxa de 38,0% de resistência. Estes dados estão dispostos na figura 2.

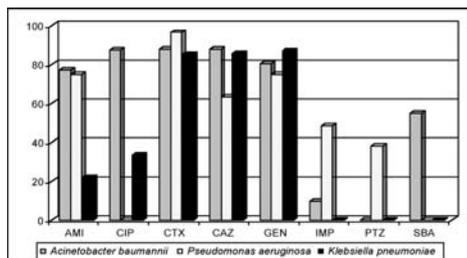


Figura 2 – Distribuição em porcentagem da resistência de bacilos Gram-negativos a antimicrobianos: Amicacina (AMI), ciprofloxacina (CIP), cefotaxima (CTX), Cefotazidima (CAZ), gentamicina (GEN), imipenem (IMP), piperacilina-tazobactam (PTZ), ampicilina-sulbactam (SBA).

Para *A.baumannii* PTZ não foi avaliado; para *P.aeruginosa* não foram avaliados: CIP e SBA; para *K.pneumoniae* não foram avaliados PTZ e SBA.

DISCUSSÃO

O diagnóstico das IRC baseia-se em sinais clínicos inflamatórios locais e sistêmicos associados à confirmação laboratorial (culturas de pontas de cateter e/ou hemoculturas). O Center for Disease Control and prevention (CDC, 2001) recomenda a realização de culturas semiquantitativas ou quantitativas do cateter como parâmetro laboratorial para o diagnóstico destas infecções.

Neste estudo, através de técnica semiquantitativa de Maki, 42,7% das CPC foram consideradas positivas, valor correspondente aos dados obtidos por Akan (2003) e Sadoyama e Gontijo (2002). Estudos demonstrando diferentes taxas de CPC (47 a 70%) são encontrados na literatura (MAKI *et al.*, 1977; COOPER e HOPKINS, 1985; BRUN-BUISSON *et al.*, 1987; SHERERTZ *et al.*, 1990; MERMEL e ScM, 2000; LLOP *et al.*, 2001; AKAN, 2003). A variabilidade nas taxas de CPC observada pode ser justificada principalmente, pelo fato dos estudos serem realizados em diferentes grupos de pacientes e para diferentes terapias de uso dos CVC.

Embora sexo e idade não sejam fatores de risco estudados e relacionados às IRC, a maior frequência de CPC verificadas neste trabalho, em homens e em pacientes menores de um ano, correspondem aos dados encontrados por alguns autores (SHERERTZ *et al.*, 1990; MORO *et al.*, 1994; LLOP *et al.*, 2001), que observaram um predomínio de CPC no sexo masculino e nos extremos de idade. A compreensão para este fato é que crianças menores de um ano e idosos costumam ser pacientes clinicamente críticos, expostos a manipulações excessivas e muitas vezes colonizados por microbiota hospitalar multiresistente e por apresentarem, também, as imunodeficiências naturais da idade (LLOP *et al.*, 2001; BEGHETTO *et al.*, 2002; URREA *et al.*, 2003).

Como verificado por vários pesquisadores e relatado pelo National Nosocomial Infection Surveillance System (NNIS, 2001), os principais microrganismos encontrados nas CPC foram os ECN (33,7%) e *S.aureus* (20,3%) (DIENER *et al.*, 1996; O'GRADY *et al.*, 2002). Embora na prática médica os ECN sejam considerados contaminantes de diferentes materiais biológicos obtidos de pacientes internados, estes mi-

croorganismos apresentam importância crescente na etiologia das IRC. Este fato pode ser resultado do grande número de pacientes debilitados e imunodeprimidos, dos inúmeros procedimentos hospitalares invasivos empregados atualmente, pela capacidade de aderência dos mesmos à superfície do cateter após poucas horas de contato e pela participação na formação de biofilme local. Quanto à colonização de CPC por *S.aureus*, esta implica na quebra de barreiras da pele normal, uma vez que este microrganismo liga-se a fibronectina presente no biofilme que recobre o cateter. O biofilme atua como barreira para os antibióticos, anticorpos, neutrófilos e macrófagos (BISNO, 1995; MINTO *et al.*, 1999; DUNNE, 2002; O'GRADY *et al.*, 2002).

As altas taxas de resistência a oxacilina obtidas neste estudo, para os ECN e *S.aureus*, 93,3% e 66,1%, respectivamente, foram também verificadas por outros autores (FREBOURG *et al.*, 1999; HANBERGER e DIEKEMA, 2001; GRAY e GEORGE, 2001; SADOYAMA e GONTIJO, 2002). Os estafilococos (ECN e *S.aureus*) resistentes à oxacilina, vêm apresentando uma incidência crescente, principalmente em hospitais terciários e/ou de ensino, podendo atingir estas taxas de prevalência.

Os bacilos Gram-negativos não-fermentadores, *A.baumannii* e *P.aeruginosa* foram isolados em taxas significativas, 9,4% e 8,3%, respectivamente. Dados semelhantes foram obtidos por Sherertz *et al.* (1990), Hariharan *et al.* (2003) e AKAN (2003). Estes microrganismos têm como habitat o trato gastrointestinal e usualmente colonizam instrumentais, recipientes e ambientes hospitalares úmidos. São também contaminantes de diversas soluções e infusões, tornando-se importantes patógenos de infecções hospitalares. Tanto *A.baumannii* quanto *P.aeruginosa* apresentam propriedades de aderência e formação de biofilme específicas, o que facilita o desenvolvimento de colonização e infecção (MAH e O'TOOLE, 2001; BEGHETTO *et al.*, 2002; DUNNE, 2002; FILLIPIN *et al.*, 2002; AKAN, 2003).

Os isolados de *A.baumannii* analisados neste estudo apresentaram altas taxas de resistência frente as cefalosporinas de terceira geração (87,9% para ceftazidima e 57,1% para cefotaxima), aminoglicosídeos (77,4% para amicacina e 80,6% para gentamicina) e quinolonas (87,5% para ciprofloxacina). No período do estudo, foi verificada a taxa de 9,7% de resistência ao imipenem entre os isolados de *A.baumannii* testados.

Durante a última década, surtos de infecção causados por *A.baumannii* multiresistentes, incluindo cefalosporinas, aminoglicosídeos e quinolonas foram relatados em vários países, sendo que o imipenem foi o antibiótico mais efetivo contra este microrganismo. (CISNEROS *et al.*, 1996; PANDEY *et al.*, 1998; HSHUEH *et al.*, 2002). No entanto, com o uso aumentado de cefalosporinas, carbapenêmicos, ciprofloxacina e amicacina, particularmente em instituições que têm alta incidência de enterobactérias produtoras de betalactamases de espectro estendido (ESBL) e hiperprodutoras de enzimas AmpC, a emergência rápida e progressiva de *A. baumannii* resistentes a carbapenêmicos é inevitável (HSHUEH *et al.*, 2002).

Os isolados de *A.baumannii* mostraram uma considerável taxa de resistência à ampicilina-sulbactam, demonstrando que esta droga pode apresentar uso limitado contra estes microrganismos. A literatura tem relatado uma diminuição da atividade de ampicilina-sulbactam contra isolados nosocomiais de *A.baumannii* (MANIKAL *et al.*, 2000).

Pseudomonas aeruginosa foi o quarto microrganismo mais isolado nas CPC avaliadas. Foram verificadas altas taxas de resistência às cefalosporinas de terceira geração (63,3% para ceftazidima e 96,6% para cefotaxima) e aminoglicosídeos (75,0% para amicacina e gentamicina). Estes dados podem refletir, entre vários fatores, o uso extensivo destes

agentes dentro do hospital e a falta de aderência às práticas de controle de infecção hospitalar (MUTNICK *et al.*, 2004).

A resistência ao imipenem excedeu a 48% nos isolados de *P.aeruginosa*. No Brasil, este microrganismo apresenta taxas de resistência aos carbapenêmicos bastante elevadas. Em alguns hospitais brasileiros cerca de 15 a 35% das amostras são resistentes a todos os antimicrobianos disponíveis comercialmente (SADER *et al.*; GALES *et al.*, 2001). Desta forma, a polimixina B ou colistina, embora altamente tóxica, está sendo utilizada para tratar infecções causadas por amostras de *P.aeruginosa* sensíveis somente a este agente (LEVIN *et al.*, 1999; URBAN *et al.*, 2003).

Os resultados das CPC mostraram que mais de 80% dos isolados de *K.pneumoniae* foram resistentes às cefalosporinas de terceira geração e gentamicina. Taxas inferiores de resistência foram observadas para amicacina (21,7%) e ciprofloxacina (33,3%). A resistência às cefalosporinas de amplo espectro verificada em amostras de *Klebsiella* é devida principalmente, à produção de enzimas ESBL, assim como pela produção de inúmeros fatores de virulência (SADER *et al.*, 1999; MAH e O'TOOLE, 2001).

O presente estudo possibilitou conhecer os microrganismos mais freqüentes em CPC e estabelecer o perfil de resistência destes frente aos principais antimicrobianos de uso clínico no HURNP.

REFERÊNCIAS

1. Akan, O.A. Microorganisms isolated from eatheter tip cultures: Ibin Sina Hospital 2002. *Am. J. Infect. Control.* 25(3):113-118, 2003.
2. Bauer, A.W.; Kirby, W.N.N.; Sherris, G.Y.; Turk, M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:493-496, 1966.
3. Beghetto, M.; Victorino, J.; Teixeira, L.; Azevedo, M. Fatores de Risco para infecção relacionada a cateter venoso central. *R. Brasil. Ter. Intens.* 14(3):107-113, 2002.
4. Bisno, A.L.; Molecular aspects of bacterial colonization. *Infect. Contr. Hosp. Epidemiol.* 16:648-657, 1995.
5. Bone, R.B.; Grodzin, C.G.; Balk, R.A. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of disease process. *Chest.* 112:235-243, 1998.
6. Brun-Buisson, C.; Abrouk, F.; Legrand, P.; Huet, Y.; Larabi, S.; Rapin, M. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis: critical level of quantitative tip cultures. *Arch. Intern. Med.* 147(5):873-877, 1987.
7. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992- June 2001. *Am. J. Infect. Control.* 6:404-421, 2001.
8. Cisneros, J.M.; Reyes, M.J.; Pachón, J.; Becerril, B.; Caballero, F.J.; Garcia-Garmendia, J.L. *et al.* Bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical and prognostic features. *Clin. Infect. Dis.* 22: 1026-1032, 1996.
9. Collignon, P.J.; Soni, N.; Pearson, I.Y.; Woods, W.P.; Munro, R.; Sorrell, T.C. Is semiquantitative culture of central vein catheter tips useful in the diagnosis of catheter-associated bacteremia? *J. Clin. Microbiol.* 24(4):532-535, 1986.
10. Cooper, G.L.; Hopkins, C.C. Rapid diagnosis of intravascular catheter-associated infection by irect Gram staining of catheter segments. *N. Engl. J. Med.* 312: 1142-1147, 1985.
11. Couto, R.C.; Pedrosa, T.M.G.; Nogueira, J.M. Infecção Hospitalar: epidemiologia e controle. 2. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1999.
12. Dias, M.D. Infecção em UTI - Fisiopatologia, diagnóstico e tratamento In: FERRAZ, E.M. Infecção em Cirurgia. Rio de Janeiro. MEDSI, 1997. p. 295-305.
13. Diener, J.R.C.; Coutinho, M.S.S.A.; Zoccoli, C.M. Infecções relacionadas ao cateter venoso central em terapia intensiva. *Rev. Ass. Med. Brasil.* 42 (4): 205-214, 1996.
14. Dunne, W.M. Jr. Bacterial Adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin. Microbiol. Rev.* 15(2):155-166, 2002. Review.
15. Elting, L.S.; Bodey, G. P. Septicemia due to *Xanthomonas* species and non-aeruginosa *Pseudomonas* species: increasing incidence of catheter-related infections. *Medicine.* 69(5):296-306, 1990.
16. Fillipin, T.B.; Nunes, F.B.; Castaman, T.A.; Santos, R.C.V.; Alves Filho, J.C.F.; Oliveira, J.R. Sepsis relacionada ao uso de cateter intravascular. *R. Brasil. Anal. Clin.* 34(4):197-199, 2002.
17. Frebourg, N.B.; Cauliez, B.; Lemeland, J.F. Evidence for nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococci* colonizing intravascular devices. *J. Clin. Microbiol.* 37: 1182-1185, 1999.
18. Gales, A. C.; Jones, R.N.; Turnidge, J.; Rennie, R.; Amphal, R. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates: occurrence rates, antimicrobial susceptibility patterns, and molecular typing in the global SENTRY antimicrobial surveillance program. *Clin. Infect. Dis.* 32 (Suppl. 2): 5146-51155, 2001.
19. Gray, J.W.; George, R.H. Is the incidence of MRSA bacteremia representative of the rate of MRSA infection in general? *J. Hosp. Infect.* 49: 79, 2001.
20. Hanberger, H.; Diekema, D.; Fluit, A. Surveillance of antibiotic resistance in european ICUs. *J. Hosp. Infect.* 48: 161-176, 2001.

21. Hariharan, S.; Nanduri, S.B.; Moseley, H.S.L.; Areti, F.K.Y.; Jonnalagadda, R. Spectrum of microbes and antimicrobial resistance in a surgical intensive care unit, Barbados. *Am. J. Infect. Control.* 31(5):280-287, 2003.
22. Hsueh, P.-R.; Teng, L.-J.; Chen, Y.-C.; Chen, W.-H.; Yu, C.-J.; Ho, S.-W.; Luh, K.-T. Pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. *Emerg. Infect. Dis. J.* 8(8): 2002.
23. Jarvis, W.R. The epidemiology of colonization. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 17(1):47-52, 1996.
24. Levin, A.S.; Barone, A.A.; Penco, J.; Santos, M.V.; Mariho, I.S.; Arruda, E.A.G.; Manrique, E.I.; Costa, S.F. Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin. Infect. Dis.* 28: 1008-1011, 1999.
25. Llop, J.; Badia, M.B.; Comas, D.; Tubau, M.; Jódar, R. Colonization and bacteremia risk factors in parenteral nutrition catheterization. *Clin. Nutr.* 20(6):527-534, 2001.
26. Mah, T.F.; O'Toole, G.A. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol.* 9(1): 34-39, 2001.
27. Maki, D.G.; Weise, C.E.; Sarafin, H.W. A semiquantitative culture method for identifying intravenous catheter infection. *N. Engl. J. Med.* 296(23):1305-1309, 1977.
28. Manikal, V.M.; Landman, D.; Saurina, G.; Oydna, E.; Lal, H.; Quale, J. Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York citywide prevalence, interinstitutional spread and relation to antibiotic usage. *Clin. Infect. Dis.* 31:101-106, 2000.
29. Mermel, L.A.; SCM, A.M. Prevention of intravascular catheter-related infections. *Ann. Intern. Med.* 132(5): 391-402, 2000.
30. Minto, E.C.M.; Barelli, C.; Martinez, R.; Darin, A.L. da C. Identification and medical importance of coagulase-negative staphylococci species. *São Paulo Med J.* 117(4), 1999.
31. Moro, M.I.; Viganò, E.F.; Cozzi, A. Central venous catheter-related infections study group. Risk factors for central venous catheter-related infections in surgical and intensive care units. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 15: 253-264, 1994.
32. Moyer, M.A.; Edwards, L.D.; Farley, L. Comparative culture methods on 101 intravenous catheters. Routine, semiquantitative, and blood cultures. *Arch. Intern. Med.* 143(1):66-69, 1983.
33. Mutnik, A.H.; Rhomberg, P.R.; Sader, H.S.; Jones, R.N. Antimicrobial usage and resistance trend relationships from the MYSTIC Programme in North America (1999-2001). *J. Antimicrob. Chemother.* 53(2):290-296, 2004.
34. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 12th Informational supplement M100-S12. Wayne, Pennsylvania, National Committee for Clinical Laboratory Standards. 22(1), 2002.
35. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, Data Summary from January 1992-June 2001. *Amer. J. Infect. Control.* 29: 404-421, 2001.
36. O'Grady, N.P.; Alexander, M.; Dellinger, E.P.; Gerberding, J.I.; Heard, S.O.; Maki, D.G.; Masur, H.; McCormick, R.D.; Mermel, L.A.; Pearson, M. I.; Raad, I. I.; Randolph, A.; Weinstein, R.A. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Centers for Disease Controls and Prevention (CDC). *Related Infections - Recommendations and Reports.* 51 (RR10): 1-26, 2002. Disponível em: <http://65.54.246.250/cgi-bin/>. Acesso em 29 mar. 2004.
37. Pandey, A.; Kapil, A.; Sood, S.; Goel, V.; Das, B.; Seth, P. In vitro activities of ampicillin-sulbactam and amoxicillin-clavulanic acid against *Acinetobacter baumannii*. *J. Clin. Microbiol.* 36: 3415-3416, 1998.
38. Sader, H.S.; Gales, A.C.; Pfaller, M.A.; Mendes, R.E.; Zoccoli, C.; Barth, A.; Jones, R.N. Pathogens frequency and resistance patterns in Brazilian Hospitals: summary of results from three years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Braz. J. Infect. Dis.* 5:200-214, 2001.
39. Sader, H.S.; Pfaller, M.A.; Jones, R.N.; Doern, G.V.; Gales, A.C.; Winokuer, P.L.; Kugler, K.C. Bacterial pathogens isolated from patients with bloodstream infections in Latin America, 1997: Frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Braz. J. Infect. Dis.* 3: 97-110, 1999.
40. Sadoyama, G.; Gontijo Filho, P.P. Colonizações do sítio de inserção e da ponta do cateter vascular central: Experiência de 96 pacientes no hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. *NewsLab.* 54:160-168, 2002.
41. Seifert, H.; Strate, A.; Schulze, A.; Pulverer, G. Vascular catheter-related bloodstream infection due to *Acinetobacter johnsonii* (formerly *Acinetobacter calcoaceticus* var. *lwoffii*): report of 13 cases. *Clin. Infect. Dis.* 17(4):632-636, 1993.
42. Sherertz, R.J.; Raad, I.I.; Belani, A.; Koo, L.C.; Rand, K.H.; Pickett, D.L.; Straub, S.A.; Fauerbach, L.L. Three-year experience with sonicated vascular catheter cultures in a clinical microbiology laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 28(1):76-82, 1990.
43. Traub, B.; Walter, H.; Schwarze, I.; Bauer, D. Nosocomial outbreak of cross-infection due to multiple-antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae*: characterization of the strain and antibiotic susceptibility studies. *Chemother.* 46:1-14, 2000.
44. Urrea, M.; Iriondo, M.; Thio, M.; Krauel, X.; Serra, M.; La Torre, C.; Jiménez, R. A prospective incidence study of nosocomial infection in a neonatal care unit. *Am. J. Infect. Contr.* 31(8):505-507, 2003.
45. Urban, C.; Segal-Maurer, S.; Rahal, J.J. Considerations in control and treatment of nosocomial infections due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin. Infect. Dis.* 36: 1268-1274, 2003.

Endereço para correspondência:
Dra Regina Mariuza Borsato Quesada
Laboratório de Microbiologia Clínica – Centro de Ciências da Saúde
Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná
Av. Robert Koch, 60 – Vila Operária
CEP: 86038-350
Tels: (43) 3371-2346 ou 3371-2200
e-mail: reginabq@hotmail.com

Importância do rastreamento pré-concepcional e pré-natal da infecção por *T. gondii*. Prevalência sorológica em um hospital público.*

The importance of screening preconception and antenatal *T. gondii* infection Serological prevalence in a public hospital

Adriana Cristina Zancan do Carmo¹, Salimara Rampeloto Bottom², Juliana Fleck² & Sandra Trevisan Beck^{3*}

RESUMO - A infecção aguda pelo *Toxoplasma gondii* quando acomete a mulher durante a gestação pode trazer graves consequências para o recém-nascido, devido à possibilidade de transmissão placentária. A pesquisa de anticorpos IgG específicos para *T. gondii* em 553 mulheres atendidas em diferentes setores do Hospital Universitário (UFSM) permitiu determinar a prevalência da infecção nesta população, que foi de 64% (355/553). A pesquisa de anticorpos IgM foi solicitada em 160 destas pacientes, onde 6,25% (10/160) apresentaram resultados reagentes com níveis deste anticorpo entre 2,8- 0,6 UI/ml, o que tanto pode sugerir presença de infecção aguda como anticorpos IgM residuais, resultantes de infecção passada recente.

A taxa de 36% de mulheres suscetíveis, sujeitas a adquirir a infecção durante a gravidez, alerta para a importância do rastreamento desta infecção. O acompanhamento sorológico durante a rotina pré-natal permitirá a detecção precoce dos casos de infecção aguda, através da soroconversão, permitindo intervenção rápida, com instituição de medicação adequada. A pesquisa destes anticorpos, como rotina pré-concepcional, permitirá instituição de medidas preventivas através de informações higieno-dietéticas profiláticas, minimizando o risco de adquirir esta infecção durante futura gravidez.

PALAVRAS CHAVES - *Toxoplasma gondii*, gestação, rastreamento

SUMMARY - Acute phase of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women is dangerous, with risk to the newborn when transplacental infection occurs. The immunoglobulin G antibodies to *T. gondii* was search in 553 women of the ambulatory service of the Hospital Universitário (UFSM). The seroprevalence in this group was, 64% (355 out of 553). The investigation of immunoglobulin M antibodies was required in 160 from this patients. In 10 out of 160 (6,25%) the positive results raging from 2,8- 0,6 UI/ml. This results can suggests recent primary *T. gondii* infection or residual IgM, that may be detected until 12 months after infection, and is related to a chronic infection. The prevalence of of seronegative women (36%), that may acquire the infection, show the importance of serological screening. If seroconversion occurs, the clinician will be able to diagnose the acute infection, and the correct treatment applied. Investigate the presence of this antibodies before conception, allows preventions like hygiene and alimentary cares. This will minimize the risk of acquire the infection during pregnancy.

KEYWORDS - *Toxoplasma gondii*, pregnancy, screening

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose, infecção parasitária causada pelo *T. gondii*, é uma protozoose de ampla distribuição geográfica. Seu hospedeiro definitivo, o gato, espalha através das fezes, os ovos, os quais atingem maturidade rapidamente no solo e tornam-se infectantes. Quando ingeridos por hospedeiros intermediários, transformam-se em taquizoítos e multiplicam-se rapidamente com eventual desenvolvimento de cistos, contendo bradizoítos de crescimento lento, porém infectantes (REMINGTON, 1983). A infecção humana é mais comumente adquirida pela ingestão de oocistos presentes em alimento crus ou mal cozidos e mesmo em água não potável. (FRENKEL, 1973). A infecção do adulto imunocompetente é freqüentemente assintomática. Já a toxoplasmose congênita é considerada importante causa mundial de mortalidade e morbi-

dade infantil. No Brasil, os diversos inquéritos epidemiológicos realizados em gestantes com diferentes testes sorológicos têm demonstrado uma alta prevalência da toxoplasmose, que varia ao redor de 55% a 70%. (NEVES *et al*, 1994, CARMO *et al*, 1997).

A transmissão placentária do parasita pode ocorrer quando a mulher adquire a primoinfecção durante a gestação. O risco da infecção fetal é dependente da idade gestacional, na qual se produz a infecção aguda na mãe: 17% no primeiro trimestre, 25% no segundo trimestre, e 65% no terceiro trimestre. Já a gravidade das lesões fetais, é inversamente proporcional à idade gestacional: no primeiro trimestre há 13% de probabilidade de lesões graves e 87% de lesões clinicamente leves ou ausentes, no segundo trimestre esta proporção muda para 10% e 90% respectivamente, e no terceiro trimestre as lesões podem estar ausentes. (DESMONTS & COUVREUR, 1974). As

Recebido em 12/04/2004
Aprovado em 02/08/2004

* Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Laboratório Central do Hospital Universitário (HUSM)
1-Curso de Especialização em Laboratório Clínico – Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). – Santa Maria, RS, Brasil
2-Farmacêutica Bioquímica do Laboratório Central – Hospital Universitário – UFSM

3-Professora Adjunta do curso de Farmácia e Bioquímica - Dep. de Análises Clínicas e Toxicológicas – UFSM

* Endereço para correspondência: Rua Serafim Valandro 1510/302 – Centro - Santa Maria – RS CEP: 97015-630 Fone (55)220-8464 E.mail :sbeck@ig.com.br

conseqüências da infecção in útero podem apresentar desde doença grave generalizada ou neurológica (cerca de 20%), apenas infecção ocular (cerca de 10%), ou serem assintomáticas ao nascer, com seqüelas aparecendo apenas mais tarde, durante a vida da criança. (ALFORD *et al*, 1975)

Estudos prospectivos de gestações demonstram que o diagnóstico pré-natal da infecção, seguido pela terapia pré-natal, reduz a freqüência da gravidade da toxoplasmose congênita. (WONG & REMINGTON, 1994). Paralelamente, a identificação de gestantes de risco; mulheres soronegativas, na hora do diagnóstico da gravidez, também é extremamente importante. Estas gestantes podem ser monitoradas durante a gestação. Acontecendo a soroconversão, esta será um indicativo de infecção por *T. gondii*, permitindo identificar a idade gestacional na qual a infecção materna ocorreu. (DAFFOS *et al*, 1988; McCABE & REMINGTON, 1988).

Em diferentes países, a freqüência com que ocorre a infecção por toxoplasma gondii durante a gravidez varia de 1-14 casos por 1.000 gestações e a infecção congênita ocorre em 0,2 a 2 recém-nascidos (RN) por 1000 nascimentos. (WILLIAMS *et al*, 1981).

O diagnóstico da toxoplasmose na gravidez se apoiou até recentemente, em perfis sorológicos determinados através da técnica de imunofluorescência indireta, propostos por Camargo e col em 1977. A partir de critérios baseados no resultado deste exame, definia-se o paciente apresentando infecção aguda ou progressiva.

Atualmente, este teste vem sendo largamente substituído por métodos automatizados, quantitativos e de maior sensibilidade. Os ensaios enzimáticos de micropartículas (MEIA), e ensaios de captura fluorimétricos (ELFA), por detectarem níveis mínimos de anticorpos IgM circulantes, tem tornado complexa a interpretação dos resultados. A presença deste anticorpo pode não mais estar determinando fase aguda da infecção, mas apenas contato recente, por serem detectados por até 12 meses após a infecção. Assim, faz-se muito importante o conhecimento do perfil sorológico da toxoplasmose da mulher em idade fértil, sendo esta gestante ou não.

Tendo em vista a gravidade desta infecção durante a gestação, e sabendo que o risco de adquirir toxoplasmose durante a gestação correlaciona-se com a prevalência na comunidade, e com número de mulheres grávidas na comunidade com sorologia negativa para esta zoonose (FRENKEL, 1997), foi de grande valor, o conhecimento do perfil sorológico apresentado pelas mulheres atendidas nos diferentes setores do hospital universitário da UFSM. Tal abordagem permitiu avaliar a percentagem de pacientes de risco, soronegativas, que procuraram este serviço. Ao mesmo tempo, ao avaliarmos os índices de anticorpos IgG e IgM presente no soro de mulheres sensibilizadas, foi possível estimar a freqüência com que encontramos pacientes apresentando infecções crônicas ou em possível fase aguda da doença, as quais deveriam ser avaliadas com maior atenção.

MATERIAL E MÉTODOS

Casuística:

Foram analisadas 553 amostras de soro, provenientes de mulheres atendidas em diferentes setores do Hospital Universitário de Santa Maria – UFSM, no período de janeiro de 2002 a julho de 2003.

A pesquisa de anticorpos IgG específicos para antígenos do *Toxoplasma gondii* foi realizada em todas as amostras. Em 160 destas amostras também foi pesquisada a presença de anticorpos específicos da classe IgM.

Pesquisa de anticorpos IgG

A pesquisa de anticorpos IgG para *Toxoplasma gondii* foi realizada através do ensaio imunoenzimático de Micropartículas (MEIA), no equipamento AxSYM – (Abbott Laboratórios do Brasil LTDA). Resumidamente, os anticorpos anti *T. gondii*, quando presentes na amostra analisada, ligam-se a micropartículas recobertas com *T. gondii*, formando o complexo antígeno-anticorpo. Este complexo, preso a uma matrix de fibra de vidro é detectado pela adição de um anticorpo anti-IgG humana ligado a enzima fosfatase alcalina. Esta, ao agir sobre o substrato 4-metilumbeliferil-fostato, origina um produto fluorescente. A intensidade da fluorescência detectada por sistema óptico é equivalente a concentração de anticorpos específicos presentes na amostra analisada. Resultados inferiores a 2UI/mL são negativos para anticorpo IgG para *T.gondii*. Resultados superiores ou iguais a 3UI/mL são positivos para anticorpos anti *T. gondii*.

Pesquisa de anticorpos IgM

O princípio do doseamento associa o método imunoenzimático por imunocaptura com uma detecção final de fluorescência (ELFA). Todas as etapas são realizadas automaticamente pelo aparelho VIDAS – bioMerieux SA. Resumidamente, as imunoglobulinas IgM presentes na amostra são capturadas pelo anticorpo policlonal presente na fase sólida. As IgM anti-toxoplasmicas capturadas são detectadas especificamente pelo antígeno toxoplásmico. Anticorpos monoclonais anti-toxoplasma (anti-P30) conjugado com fosfatase alcalina ligam-se ao complexo imune formado. A partir da ação da enzima sobre o substrato 4-metil-umbeliferil fosfato, adicionado a reação, origina-se produto fluorescente, cuja fluorescência emitida é medida a 450nm. O valor do sinal da fluorescência é proporcional a concentração de anticorpos específicos presentes na amostra. Terminado o teste o aparelho calcula automaticamente um índice em relação a um calibrador memorizado no equipamento. Determina-se então que: índices menores que 0,55 são considerados como amostras não reagentes; índices entre 0,55-0,65 resultado equívoco; índices maiores ou iguais a 0,65 serão amostras reagentes.

RESULTADOS

Em 393 da 553 mulheres avaliadas, foi solicitado pelo clínico, para triagem inicial, apenas a pesquisa de anticorpos da classe IgG anti- *T. gondii*. Os níveis de anticorpos encontrados nestas pacientes estão representados na tabela 1.

TABELA I

Frequência de pacientes apresentando anticorpos IgG anti- *T. gondii* de acordo com o nível de reatividade

UI/mL	IgG reagente				IgG não reagente
	>300	<=300 >200	<= 200 >100	<= 100 > 3,0	
n	57	13	24	147	
Total	241				152

Em outras 160 pacientes, foram pesquisados tanto anticorpos IgG como IgM. Os resultados encontram-se representados na tabela 2, classificados por faixas de reatividade de anticorpos IgG. Entre estas pacientes, 114 foram classificadas como reagentes para anticorpos IgG, 10 das quais apresentaram também anticorpos da classe IgM, com índices entre 0,65 e 2,8, sendo então consideradas reagentes para este anticorpo. Não foram encontradas amostras que apresentassem valores classificados como inconclusivos para este parâmetro.

TABELA II

Pacientes classificadas conforme o nível de anticorpos IgG e IgM anti- *T. gondii* encontrados em análise realizada em uma única amostra de soro

IgG UI/mL	IgM reagente (n) Índice			IgM NR *(n) Índice	Total (n)
	3,0-2,1	2,0-1,0	0,99-0,65		
>=300	2	5	1	11	19
<300 >=100	1	0	0	12	13
<100 >=50	0	0	1	18	19
<50 >=20	0	0	0	32	32
<20 >=10	0	0	0	11	11
<10 >=3,0	0	0	0	20	20
Inferior a 3,0 (NR*)	0	0	0	46	46
Total parcial	3	5	2	-	-
Total	10			150	160

*NR= não reagente

A prevalência sorológica para a infecção toxoplasmica no grupo estudado foi de 64% (355/553). A pesquisa de anticorpos da classe IgM resultou positiva com índices maiores que 1,0, principalmente no grupo de pacientes que apresentavam anticorpos da classe IgG com valores superiores a 300UI/mL. Apenas duas pacientes, uma apresentando IgG de 191UI/ml e índice de IgM 2,47 e outra com IgG de 97UI/ml e IgM 0,65 não se encontravam neste intervalo. (tabela 2). A frequência de anticorpos IgM no grupo onde esta pesquisa foi realizada foi de 6,25% (10/160). No gráfico 1 podemos observar a percentagem de mulheres suscetíveis (IgG, IgM não reagentes), mu-

lheres imunes (IgG reagente, IgM não reagente) e mulheres onde a presença de infecção aguda deveria ser melhor investigada (IgG e IgM reagentes).

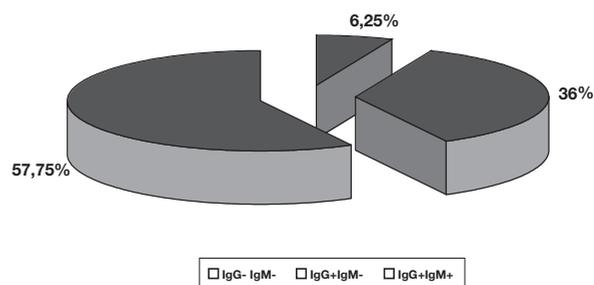


Gráfico 1 - Perfil sorológico para a infecção por *T. gondii* encontrado na população estudada

DISCUSSÃO

A toxoplasmose tem sido responsabilizada por óbito intra-uterino, principalmente quando a infecção aguda ocorre no primeiro trimestre da gravidez (DESMONTS, COUVREUR, 1974). A identificação destes casos nem sempre é realizada uma vez que os sintomas da toxoplasmose aguda em mulheres gestantes podem ser transitórios e inespecíficos

A toxoplasmose congênita é sintomática em apenas 10% dos pacientes. Este fato torna difícil a determinação da sua real incidência, principalmente em países que não realizam o acompanhamento sorológico sistemático desta infecção durante a gestação (HALL, 1992). Estudos em diferentes regiões brasileiras tem estimado incidências que variam entre 1,4 a 2 casos para 1.000 nascidos vivos (COUTINHO, 1983; PEDREIRA, 1995).

Classicamente, o diagnóstico da toxoplasmose tem se baseado na pesquisa de anticorpos contra o parasita. A pesquisa de diferentes classes de imunoglobulinas IgG, IgM e IgA anti-toxoplasma, tem auxiliado no diagnóstico laboratorial da doença.

Na população estudada, a presença de 36% de mulheres suscetíveis, sujeitas a adquirir a infecção, chama a atenção para a necessidade da realização do rastreamento sorológico. Por se tratar de um hospital público, a clientela atendida normalmente pertence a uma classe sócio-econômica com menor poder aquisitivo e menor acesso a informações sobre cuidados básicos higiênicos e dietéticos, necessários na situação em que se encontram. Esta atenção básica, ministrada pelo clínico responsável, poderá diminuir a frequência de infecção placentária evitando que um quadro de infecção aguda se estabeleça.

Além disto, caso ocorra a contaminação, será possível ao clínico, através da soroconversão, detectar o período de gravidez em que esta ocorreu. A instituição de tratamento adequado minimizará os risco para o recém nascido, e conforme o trimestre de gravidez, a angustia materna quanto as possíveis seqüelas ao seu bebê poderá ser evitada.

O conhecimento de imunidade prévia, verificado em

64% das mulheres deste estudo, foi semelhante ao encontrado por outros pesquisadores (NEVES, *et al*, 1994; CARMO *et al*, 1997, NOBREGA, 1998). A presença deste perfil sorológico permite tranquilidade no momento de uma gestação, já que casos de infecção congênita grave são raros nesta situação. Contudo, deve-se lembrar que gestantes, mesmo estando na fase crônica da infecção, expondo-se a uma alta carga parasitária, a cepa do parasita com virulência aumentada ou a situações de imunossupressão, podem vir a transmitir a infecção ao feto (HASSL, TUMA, 1995, HENNEQUIN *et al*, 1997). A parasitemia materna, a maturidade da placenta e a competência da resposta imunitária materna ao *T. gondii*, são fatores que em conjunto determinam a probabilidade de transmissão materno-fetal. (WILSON e REMINGTON, 1992).

Entre as mulheres soropositivas, 10 apresentaram níveis de anticorpos IgM considerados reagentes para o método utilizado (ELFA). Podemos observar que a maioria destas pacientes apresentava anticorpos IgG em níveis maiores que 300UI/mL e IgM maior que 1,0. (tabela 2). Títulos elevados de anticorpos da classe IgG acompanhados da presença de anticorpos IgM, sugerem presença de infecção aguda. Contudo, devido a grande sensibilidade dos métodos imunoenzimáticos hoje utilizados, estes anticorpos podem ser residuais de infecção recente, mas já não indicarem fase aguda da doença. Para melhor discriminar estas duas situações, tem sido muito utilizada atualmente a determinação da avidéz dos anticorpos IgG. Este método separa os anticorpos IgG de baixa afinidade (baixa avidéz), produzidos na fase inicial da infecção (aproximadamente até 4 meses), dos anticorpos de alta afinidade, indicativos então de infecção pregressa (HEDMAN *et al*, 1989). Presença de anticorpos IgG de baixa avidéz, em qualquer período da gestação, indica grande probabilidade de infecção recente aguda.

Contudo, devemos ressaltar que o teste de avidéz é extremamente eficiente principalmente se realizado durante o primeiro trimestre da gravidez. Uma vez que não há dados na literatura que indiquem a possibilidade de infecção fetal quando a gravidez tem início 30 dias após o quadro agudo, a presença de IgG de alta avidéz, neste período, seria garantia da infecção ter ocorrido sem risco de transmissão vertical. Quando a pesquisa é realizada no segundo ou terceiro trimestre da gestação, um resultado indicando a presença de anticorpos de alta avidéz, não descarta a possibilidade desta infecção ter ocorrido no início da gestação, período de maior gravidade para o conceito. Trabalho recente de BARINI *et al*, 2004, onde foram avaliadas 65 pacientes apresentando sorologia positiva para IgM anti-toxoplasma em exame de rotina no pré-natal, detectou 8 recém-nascidos positivos para PCR para toxoplasmose. As 8 gestantes apresentavam níveis de IgM entre 0,8 – 4,3, e anticorpos IgG de alta avidéz. Todas estas mulheres realizaram a consulta pré-natal após o terceiro trimestre de gestação, o que explica o baixo desempenho do teste de avidéz de anticorpos nestas pacientes.

Estas informações indicam para a necessidade do rastreamento pré-natal precoce ou mesmo pré-concepcional

da infecção por *T. gondii*. A determinação do perfil sorológico das mulheres férteis, principalmente o acompanhamento das gestantes soronegativas, permitiria o diagnóstico mais seguro dos casos agudos da infecção. Nestes casos a simples soroconversão seria suficiente, dispensando a necessidade de exames mais onerosos. Métodos de imagem, como exame ultra-sonográfico, nem sempre conseguem detectar alterações como calcificações cerebrais, e exame do líquido amniótico, é sempre invasivo.

Da mesma forma, tratamentos indevidos, de casos considerados erroneamente como agudos, devido a reações falso-positivas para a pesquisa de anticorpos IgM, também poderiam ser evitados.

REFERÊNCIAS

- 1-Alford CA JR, Stagno S, Reynolds DW. Toxoplasmosis: Silent Congenital Infection. In: Infections of the Fetus and Newborn Infant. Krugmann S, Gershon AE, editors. Alan R. Liss, Inc, New York, NY 1975, p. 975;113.
- 2-Barini, R; Bianchi, M.O.; Camargo, M.M.; Silva, E.A.F.; Marba, S.T. – *Âmbito Hospitalar* – Ano XIV nº 164: 30-32, 2004.
- 3-Camargo, ME; Lesser, P.G & Leser, W.S.P. Definição de perfis sorológicos na toxoplasmose. Importância diagnóstica e epidemiológica. *Rev. Bras. Patol. Clin*;13: 113-127,1977.
- 4-Carmo EL, Póvoa MM, Trindade DB, Machador LD, Mesquita MPM. Levantamento da Prevalência de *Toxoplasma gondii*, através de diferentes métodos sorológicos, em um grupo de grávidas e crianças (0-2 anos) da cidade de Belém/PA. In: 14º Congresso Brasileiro de Parasitologia; 1997; Salvador. Anais. Salvador: (s.n.); 1997. p. 107.
- 5-Coutinho SG, Garcia AP, Amendoeira MRR. Detection of Newborn infants at risk for congenital toxoplasmosis in Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Med Trop São Paulo* 25(1):25-30, 1983.
- 6-Daffos F, Foestier F, Capella-Pavalovsky M, Thulliez P, Aufrant C, Valenti D, Cox WL *et al* - Prenatal Management of 746 Pregnancies At Risk for Congenital Toxoplasmosis. *N. Engl J. Med*: 318:271,1988.
- 7-Desmonts G, couvreur J. Congenital Toxoplasmosis. A Prospective Study of 378 Pregnancies. *N. Engl. J. Med*, 290: 1110,1974.
- 8-Frenkel JK – *Toxoplasmosis in and Around Us.* – *Bioscience*; 23: 343,1973.
- 9-Frenkel, J.K. Toxoplasmose. In: VERONESI, R.; FOCCACIA, R. *Tratado de infectologia* 2 ed.1997; São Paulo: Ateneu, Cap 99 p. 1290-1305
- 10-Hall SM. Congenital Toxoplasmosis (Review). *Brith Med J*; 305:291-297,1992.
- 11-Hassl A, Tuma W. Toxoplasmosis diagnosis in pregnant woman infected with human immunodeficiency virus I. *Ped Infect Dis*, 14:1016-1017, 1995.
- 12-Hedman, K., Lappalainen, M., Seppälä, I & Mälälä. Recent primay toxoplasma Infection indicated by low avidity of specific IgG – *J. Infect Dis* 159: 736-740, 1989.
- 13-Hennequin C, Dureau P, N Guyen N, Thulliez p, Gagelin B, Dufier, JL . – Congenital toxoplasmosis acquired from na immune woman. *Ped. Infect Dis. J.* 16:75-77, 1997.
- 14-Mc Cabe R, Remington JS. Toxoplasmosis: The Time Has come. *N. Engl J. Med*: 318:313, 1988 .
- 15-Neves JM, Nascimento LB, Ramos JGL, Martins-Costa SH – Toxoplasmose na gestação. *Rev. Bras. Gin. Obst.*, 16(6):197-202,1994.
- 16-Nóbrega MC. Ocorrência de Toxoplasmose em gestantes e em seus recém-nascidos, atendidos no Hospital das Clínicas da UFPE (Dissertação). Recife: Universidade Federal de Pernambuco;1998.
- 17-Pedreira DAL. Contribuição ao Estudo da Toxoplasmose Congênita (Dissertação). São Paulo: Faculdade de Medicina; Universidade de São Paulo; 1995.
- 18-Remington JS, Desmonts G. – Toxoplasmosis IN: Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. Philadelphia: WB Sanders 1983;143.
- 19-Williams FAB, Scott, JM; MacFarlane DE, Williams JM, Eliasjones, TF, Williams H. – Congenital toxoplasmosis: a prospective survey in the west of Scotland. *The J. Infect.Dis.* (18): 853-862, 1994.
- 20-Wilson CB, Remington JS. Toxoplasmosis. In: Feigin RD, Cherry JD. *Textbook of Pediatric Infectious Diaseases*. 3.ed. Philadelphia: Saunders; 1992 V.4 p. 2057-2069.
- 21-Wong SY, Remington JS – Toxoplasmosis in pregnancy . *Clin. Infect. Dis.*;18: 853-862,1994.

Endereço para correspondência

Rua Serafim Valandro 1510/302 – Centro - Santa Maria – RS
 CEP: 97015-630
 Tel.: (0xx55) 220-8464
 E.mail :sbeck@ig.com.br

Contaminação do solo por helmintos de importância médica na praia do sul (Milionários), Ilhéus – BA*

Contamination of soil by helminths of medical importance in the south beach (Milionários) Ilhéus – BA

Ana Pilar Sousa González y Cáceres¹, Flávia de Assunção Gonçalves²,
Irene Maurício Cazorla³ & Sílvia Maria Santos Carvalho⁴

RESUMO - O estudo do nível da contaminação do solo por parasitos em áreas endêmicas, públicas e muito freqüentadas como as praias, faz-se necessário uma vez que o solo é uma fonte de infecção contínua, principalmente para as crianças. Para avaliar o nível de contaminação do solo por helmintos na praia do sul (Milionários), na cidade de Ilhéus – BA, utilizou-se o método de Rugai modificado aplicado a 24 amostras de solo, colhidas no mês de Maio em áreas amplamente movimentadas. Do total de larvas encontradas, 41,66% foram de *S. stercoralis* e 58,33% foram de Ancilostomídeos, distribuídos em três distintas profundidades do solo: superfície, 10 cm e 20 cm. Esses resultados confirmaram a contaminação da praia por helmintos, concluindo-se que a mesma representa um importante foco de transmissão de infecções por larvas. Este estudo mostra a necessidade de implantação de um programa de controle dos parasitos mais freqüentes encontrados na área, bem como de um programa de conscientização e educação sanitária das comunidades.

PALAVRAS-CHAVES - Solo, Praia, Contaminação, Parasitos humanos.

SUMMARY - The study of contamination level from soil in public endemic areas as beaches is necessary, because it is a continue infections source, mainly because of children. For evaluate this contamination level by worms in the south beach (Milionários) in Ilhéus – BA (Brasil) it was used a from modified Rugai method. It was applied in 24 soil pieces picked from mostly busy areas. It was identified 41,66% of worms of *S. stercoralis* and 58,33% of Ancilostomídeos distributed in three diferent depths of soil: surface, 10 cm, and 20 cm. This study confirm the contamination of the beach by helminth concluding that has a very important foccus of infeccion transmission by worms. From this analisys will be possible start an implantation of a worms control program in this area, as well a awareness and sanitary education program in communities.

KEYWORDS - soil, beach, contamination, human worms.

INTRODUÇÃO

As praias são importantes focos de infecção humana por microrganismos, tanto através da água quanto através do solo. Atualmente, os estudos realizados em relação à balneabilidade de praias levam em consideração a qualidade da água do mar quanto a sua contaminação por coliformes totais e fecais. No entanto, a análise da contaminação, quer seja parasitária ou bacteriológica dos solos das praias ainda constitui um novo foco de pesquisa. Ao contrário, tem-se registrado, continuamente, a contaminação de solos de outras áreas públicas como parques e praças (Araújo *et al.*, 1998; Corrêa *et al.*, 1996; Santarém *et al.*, 1996).

Poucos pesquisadores atentaram para a problemática da qualidade sanitária das areias das praias. Esta pesquisa ainda representa, no Brasil, trabalho pioneiro pois são poucas as áreas do litoral que foram analisadas. Entretanto, já foram encontradas diversas espécies de parasitos patogênicos ao homem como *S. stercoralis*, *Toxocara spp*, *A. lumbricoides*, Ancilostomídeos e outros muitos dos quais são veiculados por animais que transitam livremente pela praia (Lagaggio *et al.*, 2001; Nabuco *et al.*, 2000; Silva *et*

al., 2000).

O presente estudo fundamentou-se na problemática da contaminação dos banhistas por ovos e larvas de parasitos dispersos nas areias da praia dos Milionários, de Ilhéus – BA, e teve como objetivo estudar o nível de contaminação do solo da praia do sul (Milionários) do referido município em relação à presença de helmintos de importância médica, a fim de contribuir como fonte de informação atualizada para que as autoridades em saúde pública possam tomar medidas efetivas de controle.

MATERIAIS E MÉTODOS

A coleta foi realizada no dia 13 de maio de 2003, cujo tempo se apresentou bom e o céu nublado, apesar da previsão de chuva (www.climatempo.com.br). As amostras de solo foram coletadas aleatoriamente de quatro áreas dos trechos mais movimentados da praia, localizados entre as barracas e o mar. Cada área media 100m² demarcados com estacas. O espaço foi dividido virtualmente ao meio formando, então, duas sub-áreas: 1, 2 (1ª área); 3, 4 (2ª área); 5, 6 (3ª área) e 7, 8 (4ª área). Cinco sub-amostras foram colhidas em zig-zag de cada sub-área, procedimento este re-

Recebido em 23/01/2004
Aprovado em 20/10/2004

*Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) /Departamento de Ciências Biológicas - Laboratório de Parasitologia
Fontes financiadoras: UESC e FAPESB

¹Discente do curso de Biomedicina / trabalho monográfico / responsável pela pesquisa; ²Discente do curso de Biomedicina / Bolsista de Iniciação Científica;

³Docente do Departamento de Exatas e Tecnológicas; ⁴Docente do Departamento de Ciências Biológicas / responsável pela pesquisa.

alizado em três distintas profundidades: superfície, 10 cm e 20 cm. O conjunto de cinco sub-amostras da sub-área 1 da superfície foi acondicionada em uma sacola plástica, dando origem à amostra de solo composta nº 1. Esse procedimento foi realizado com todas as demais sub-amostras, resultando em 24 amostras de solo ao final da coleta, contendo, aproximadamente, 500g cada sacola a ser analisada. Posteriormente, procedeu-se a homogeneização do material, seguida da execução da metodologia.

As amostras foram processadas no mesmo dia da coleta no Laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) e analisadas pelo método de Rugai modificado, onde 100g da amostra homogeneizada foram colhidos e imersos em cálice de sedimentação, contendo água a 45°C. A modificação do método residiu no fato de o material ter sedimentado durante 24h, seguida de centrifugação do sedimento a 2000 rpm, por dois minutos, em tubo Wasserman. Lâminas foram preparadas, coradas com lugol e analisadas ao microscópio.

Para analisar a existência de relação entre a quantidade de amostras contaminadas por espécies de parasitos e a profundidade do solo, bem como a relação entre a quantidade de parasitos por espécie e profundidade, foi utilizado o teste Qui-quadrado.

A contaminação foi avaliada de acordo com dois critérios: Presença ou ausência de qualquer estrutura parasitária. A contaminação do solo da praia ficou confirmada através da presença de qualquer forma parasitária mesmo que esta ocorresse em baixa incidência. E mesmo a ausência de qualquer estrutura parasitária não excluiu, de forma alguma, a possibilidade de contaminação. O nível da contaminação foi classificado de acordo com uma escala assim definida:

- 0 - Ausência de estruturas parasitárias quaisquer, de lixo, fezes e animais transitando nas proximidades. (Sem indícios de contaminação ou 0).
- 1 - Presença de ovos e/ou larvas de helmintos, ausência de lixo e fezes animais e vice-versa. (Baixa contaminação ou +).
- 2 - Presença de ovos e/ou larvas de helmintos, presença de lixo ou fezes, ou animais transitando. (Média contaminação ou ++).
- 3 - Presença de fezes humanas ou animais, presença de cachorro na praia, além de ovos e larvas de helmintos. (Alta contaminação ou +++).

RESULTADOS

Nas 24 amostras de solo foram encontradas 10 larvas de *S. stercoralis* (41,66%) e 14 larvas de Ancilostomídeos (58,33%), conforme fig. 2. Embora, aparentemente, tenha-se observado uma maior frequência de Ancilostomídeos, esta não foi estatisticamente significativa ($p = 0,541$).

Foi realizada uma análise das amostras de solo quanto à presença ou ausência de parasitos. A espécie *S. stercoralis* não foi encontrada na superfície do solo, no entanto, estava presente nos níveis de 10 cm e 20 cm de profundidade, tendo sido detectada em seis das 24 amostras, conforme ta-

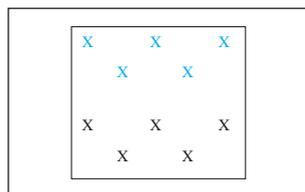


Fig.1 Esquema da metodologia de coleta em zig-zag.

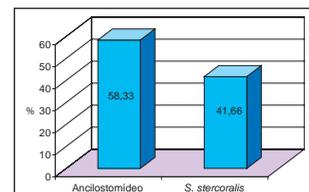


Fig. 2. Distribuição de larvas encontradas por espécie.

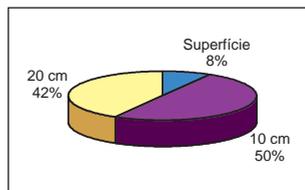


Fig.3. Distribuição de parasitos encontrados segundo a profundidade pesquisada.

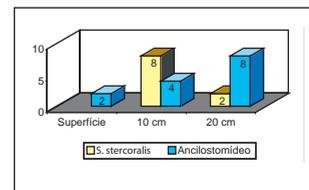


Fig. 4 Distribuição do nº. de larvas por espécie nos três níveis do solo.

TABELA I
Presença (1) ou Ausência (0) de larvas de *S. stercoralis* nas 24 amostras de solo.

Amostra	Profundidade			Total
	Superfície	10	20	
1	0	1	0	1
2	0	1	1	2
3	0	1	0	1
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0
6	0	0	1	1
7	0	0	0	0
8	0	1	0	1
Total	0	4	2	6

TABELA II
Presença (1) ou Ausência (0) de larvas de Ancilostomídeos nas 24 amostras de solo.

Amostra	Profundidade			Total
	Superfície	10 cm	20 cm	
1	1	1	1	3
2	0	1	0	1
3	0	1	1	2
4	0	0	1	1
5	0	1	1	2
6	0	0	0	0
7	0	0	0	0
8	1	0	0	1
Total	2	4	4	10

bela 1. Os Ancilostomídeos se mostraram presentes nos três níveis estudados, sendo encontrados em 10 das 24 amostras (Tabela 2).

Foi realizada a quantificação total dos parasitos encontrados nas três diferentes profundidades pesquisadas no solo

TABELA III
Resultado da análise de 24 amostras de solo
segundo o número total de larvas de
Ancilostomídeo nos 3 níveis do solo

Amostra	Local			Total
	Superfície	10 cm	20 cm	
1	1	1	3	5
2	0	1	0	1
3	0	1	1	2
4	0	0	1	1
5	0	1	3	4
6	0	0	0	0
7	0	0	0	0
8	1	0	0	1
Total	2	4	8	14

TABELA IV
Resultado da análise de 24 amostras de solo
segundo o número total de larvas de S. stercoralis
nos 3 níveis do solo.

Amostra	Local			Total
	Superfície	10 cm	20 cm	
1	0	1	0	1
2	0	3	1	4
3	0	3	0	3
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0
6	0	0	1	1
7	0	0	0	0
8	0	1	0	1
Total	0	8	2	10

(Fig. 3), onde a profundidade com maior incidência de parasitos foi 10 cm, com um total de 12 larvas (50%), seguida de 20 cm de profundidade com um total de 10 larvas (42%) e, em seguida, a superfície, com 02 larvas (8%). Em relação à distribuição dos parasitos por níveis de solo, foram verificadas 14 larvas de Ancilostomídeos distribuídas nos 3 níveis, e 10 larvas de *S. stercoralis*, distribuídas nos níveis de 10cm e 20cm de profundidade (Tabs. 3 e 4 e Fig. 4)

DISCUSSÃO

Os resultados apresentados comprovam a contaminação do solo da praia do Sul de Ilhéus- Milionários, assim como a possibilidade de ocorrência de infecções humanas por enteroparasitas através do solo. O grau de contaminação foi classificado como da ordem de "média contaminação" devido à ocorrência de formas parasitárias e lixo no solo da praia, criando assim, condições para a proliferação de microrganismos no ambiente. Além disso, o teste estatístico Qui-quadrado aplicado, revelou que não foi observada relação entre o tipo de parasito e a profundidade em que se encontravam ($\chi^2 (2) = 1,778$; $p = 0,411$), e que há diferença significativa entre a distribuição dos parasitos nos diferentes níveis do solo pesquisado ($\chi^2 (2) = 6,446$; $p = 0,040$). O maior número de parasitos foi encontrado a 10 cm e 20 cm de profundidade (Figs. 3 e

4), o que ocorreu em função do geotropismo positivo, capacidade esta conferida às larvas, utilizada também para protegerem-se contra as intempéries do ambiente.

Em trabalho realizado por Nabuco *et al.* (2000), na praia de Copacabana, Rio de Janeiro, foram encontrados cistos e oocistos de protozoários e ovos de helmintos através da aplicação das técnicas de Willis, Denis, Stone e Swanson (modificado). Já Silva *et al.* (2000), analisando o solo de 18 praias, também do Rio de Janeiro, em relação à contaminação por ovos de helmintos, aplicou a técnica de hidratação de ovos com solução de Ruffer, encontrando 2% de positividade. Lagaggio *et al.*, (2001), analisando o solo de três praias de Guaíba/ RS, aplicou a técnica de Caldwell & Caldwell modificada, cujo resultado demonstrou a presença de cistos e oocistos de protozoários e ovos de helmintos. De fato, as metodologias aplicadas aos diferentes trabalhos mostraram-se à contento, entretanto, em nosso estudo, em função da análise ser dirigida à captura de helmintos, aplicamos a metodologia do Rugai modificado, levando em consideração o seu princípio, a praticidade e o baixo custo.

A interpretação dos achados é tarefa muito complexa, pois apesar da constatação da contaminação das areias da praia dos Milionários por endoparasitas, não se pode classificá-la quanto à sua balneabilidade utilizando este critério, isso porque ainda não foi criado um meio de classificação da qualidade sanitária de praias utilizando como critério a contaminação do solo. Esta classificação tem sido realizada atualmente através da análise da água do mar quanto à sua concentração de coliformes fecais e totais.

AGRADECIMENTOS

Às biomédicas Christiane Santos Matos e Yasmine Barbosa de Souza e à professora Rachel Passos Resende pela colaboração na concretização desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Anuário Estatístico de Saúde do Brasil, Morbidade e Fatores de Risco. Brasília, Ministério da Saúde, 2001. Disponível em: <<http://www.portal.saude.gov.br/saude/aplicacoes/anuario2001/morb/>> Acesso em: 13 jun. 2003.
2. ARAUJO, F. R. et al. Contaminação de praças públicas de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, por ovos de *Toxocara* e *Ancylostoma* em fezes de cães. Campo Grande, 1998. Rev. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. V. 32 n.5 Uberaba set./out. 1999.
3. CORREA, G.L.B.; MOREIRA, W.S. Contaminação do solo por ovos de *Ancylostoma* spp. Em praças públicas, na cidade de Santa Maria, RS, Brasil// Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro./v.2/3, n. 1/p. 15-17//jan./dez.. 1995/1996.
4. <<http://www.climatempo.com.br>> Acesso em: 13 de maio de 2003
5. LAGGAGIO, V. R. A et al. Presença de enteroparasitas em três praias do município de Guaíba - RS/Brasil. Guaíba, 2001. Disponível em: <<http://www.redevet.com.br/artigos/praias.html>> Acesso em: 30 jul. 2002.
6. NABUCO, B.F. P.; PANDHOLPHO, V. C.; SANTOS, J. A. Ocorrência de ovos de helmintos, cistos e oocistos de protozoários na areia da praia de copacabana. Rio de Janeiro, 1999. Disponível em: <<http://www.crmvrj.com.br/lv-cong/ovos.htm>> Acesso em: 23 set. 2002.
6. SANTAREM, V. A.; SARTOR, I.F./ BERGAMO, F.M.M. Contaminação por ovos de *Toxocara* spp de parques e praças públicas de Botucatu, São Paulo, Brasil. Botucatu, 1998. Rev. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. V. 31 n. 6 Uberaba nov./dez. 1998.
7. SILVA, C. A. M. C.; PASTURA, C. P. (2000), Qualidade Sanitária das Areias de Praias do Município do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2000. Disponível em : <http://www.ciplima.org.pe/sanitaria/xxvii_con/tema07/vii-001.pdf> Acesso em: 29 jan. 2003.

Endereço para correspondência:

Sílvia Maria Santos Carvalho
 Universidade Estadual de Santa Cruz
 Departamento de Ciências Biológicas
 Rodovia Ilhéus/ Itabuna Km 16
 CEP: 45.650-000 - Ilhéus - BA
 Tel. (73) 680-5268

e-mails: sissacarvalho@yahoo.com / apcaceres@hotmail.com

O Espermorom na morfologia espermática estrita: relato de um caso

The Espermorom in the strict espermática morphology: story of a case

Orildo dos Santos Pereira¹, João Baptista M. Janini², Humberto Marques Tibúrcio³
e Afrânio Caiafa de Mesquita Filho⁴.

RESUMO - O espermorom é um software dedicado para auxiliar na análise do esperma e ele foi o empregado para auxiliar na avaliação da morfologia dos espermatozoides deste caso, devido a sua facilidade de manuseio e a quantidade de imagens digitais. As imagens digitais do espermorom permitiram a fácil caracterização dos diferentes aspectos morfológicos que foram observados neste paciente. A morfologia dos espermatozoides humanos varia substancialmente em sua apresentação embora isto não ocorra de pessoa para pessoa. A definição de um padrão que possa ser aceito como o de "normalidade" baseia-se na visualização das formas dos espermatozoides que se interagiram com o plasma seminal e com o muco cervical. A verificação da morfologia é um fator tão importante na análise do sêmen quanto é a determinação da concentração, da motilidade e da vitalidade dos espermatozoides, independente do objetivo do exame. O estudo da morfologia estrita, é uma técnica que foi descrita por Kruger (1), e tem a propriedade de ser um dos indicadores da qualidade e viabilidade dos espermatozoides que estão sendo produzidos pelos testículos, e os resultados desta, correlacionam-se com o sucesso da fertilização por via natural ("in vivo") ou da inseminação intra-uterina ("in vitro"). Portanto, ela é uma valiosa "arma" durante a investigação do casal com dificuldades de ter filhos. Para a análise da morfologia estrita, os espermatozoides são corados pelo método de Papanicolaou e examinados ao microscópio óptico numa ampliação de 1.000 vezes.

PALAVRAS-CHAVES - Espermograma, morfologia, Morfologia Estrita de Kruger, espermatozoide, fertilização, infertilidade

SUMMARY - The espermorom is a software dedicated to aid in the analysis of the sperm and him it was the employee to aid in the evaluation of the morphology of the spermatozoon of this case, due to its easiness of I handle and the amount of digital images. The digital images of the espermorom allowed the easy characterization of the different morphologic aspects that were observed in this patient one. The morphology of the human spermatozoon varsti substantially in its presentation although this medo not happen of person for person. The definition of a pattern that can be accepted as the one of "normality" bases on the visualization in the ways of the spermatozoon that if interagiram with the seminal plasm and with the cervical mucus. The verification of the morphology is such an important factor in the analysis of the semen as it is the determination of the concentration, of the motilidade and of the vitality of the spermatozoon, independent of the objective of the exam. The study of the strict morphology, is a technique that was described by Kruger (1), and he/she ngh the property of being one of the indicators of the quality and viability of the spermatozoon that they are being produced by the testicles, and the results of this, they are correlated with the success of the fertilization by natural road ("in lives") or of the intra-uterine insemination ("in vitro"). Therefore, she is a valuable "weapon" during the couple's investigation with difficultsti of erhavi children. For the analysis of the strict morphology, the spermatozoon are red-faced for the method of Papanicolaou and examined to the optical microscope in an amplification of 1.000 times.

KEYWORDS - Spermogram, morphology, Strict Morphology of Kruger, spermatozoon, fertilization, infertilidade

INTRODUÇÃO

A morfologia estrita dos espermatozoides foi o conceito empregado para avaliar o esperma deste paciente e será a descrita ao longo desta monografia.

1 - Padrão aceito como "normal"

Na realização do espermograma, antecipadamente, um critério estrito deve ser aplicado quando se analisa o padrão que será o aceito como o representante da "normalidade" ou a morfologia esperada dos espermatozoides. Entre os padrões que devam ser considerados estão, a cabeça, a região acrossômica, a peça intermediária e a cauda. A morfologia esperada e que poderá ser atribuída como a normal deve ser aquele espermatozoide que apresen-

ta a cabeça com o formato oval, deve haver uma região acrossômica e ela deve ser bem definida compreendendo de 40% a 70 % da área da cabeça do espermatozoide e não pode ser visto defeito anatômico na peça intermediária ou na cauda do espermatozoide.

2 - Importância do padrão aceito como "normal"

Foi observado que: 1) homens com concentração e motilidade espermática "normais" ou esperada, mostravam taxas de fertilização significativamente mais baixas, se apresentassem menos que 14% de espermatozoides com características morfológicas compatíveis com o padrão representante da "normalidade". 2) quando estes pacientes apresentavam menos de 4% de espermatozoides caracterizados morfolologicamente como "normais", não ocorria ferti-

Enviado em 11/03/2004
Aprovado em 02/08/2004

¹Farmacêutico Bioquímico. Instituto de Prevenção e Diagnóstico Prof. Dr. J. Janini, Varginha MG
Universidade de Alfenas – Campus Varginha e Unincor – Campus Tres Corações

²Médico Anátomo-Patologista e Patologista Clínico. Instituto de Prevenção e Diagnóstico Prof. Dr. J. Janini, Varginha MG

³Farmacêutico Bioquímico. Centro Mineiro de Hormônio e Imunologia Ltda, Belo Horizonte MG

⁴Farmacêutico Bioquímico. Laboratório Imaculada Conceição Ltda, Campos Gerais MG

lização.

Assim, a avaliação da morfologia e da quantidade de espermatozoides segundo este critério estrito, é fundamental para o prognóstico dos casais que alcançarão gestação por métodos naturais. A quantidade de espermatozoides avaliada é expressa em unidade de porcentagem.

3 – Prognósticos com a morfologia estrita

A morfologia estrita também é fundamental para a indicação e o prognóstico dos casais candidatos a técnicas de inseminação intra-uterina ("in vitro"). Este procedimento, desenvolvido por Kruger e colaboradores, (1) é amplamente utilizado nas clínicas de fertilização "in vitro", para prever as chances de ocorrência da fertilização. Além das características morfológicas convencionais dos espermatozoides, este critério leva em consideração a área ocupada pelo acrossoma.

Na adoção deste critério os espermatozoides são classificados em 3 grupos com as denominações e características morfológicas descritas

Grupo	Denominação	Descrição
1	Normais	A cabeça é oval, a peça intermediária e o flagelo são aparência e tamanho normais, o acrossoma ocupa uma área entre 40% a 70% da região cefálica e não apresenta vacúolos
2	Levemente Amorfos	Apresentam características dos espermatozoides do Grupo 1, mas a cabeça é parcialmente alongada ou possuem pequenos vacúolos no Acrossoma.
3	Severamente Amorfos	0 acrossoma ocupa menos de 40% ou ocupa mais de 70% da cabeça.

Os nossos critérios incluem no grupo 3 os espermatozoides microcefalos, macrocefalos, fusiformes, com gota citoplasmática, angulações de peça intermediária, alterações importantes na cauda, ou com anomalias múltiplas de cabeça, peça intermediária e cauda, severamente comprometidos

Trabalhos científicos publicados (2) comprovaram a importância da morfologia estrita no prognóstico de fertilização "in vitro". A conclusão é que com menos de 4% de formas normais o

prognóstico é ruim, de 4% a 14% é bom prognóstico e acima de 14% é excelente prognóstico.

4 – Limites dos valores de referência

O ponto de corte ou valor de referência é de 14 % para a "Morfologia Estrita". Ele foi estabelecido por Kruger e colaboradores, (1). Neste trabalho, os paciente foram divididos em quatro grupos, onde as esposas não apresentavam qualquer anormalidade em relação à fertilidade. Os resultados dos exames destes pacientes podem ser descritos quanto a fecundação e a gestação e classificados como descrito à seguir.

Grupo	Morfologia	Oócitos fertilizados
I	Apresentaram de 0 % a 14 % de espermatozoides com o padrão "normais" caracterizado com cabeças ovais de acordo com os critérios estritos	37 %
II	Apresentaram de 15 % a 30 % de espermatozoides com o padrão "normais" caracterizado com cabeças ovais	81 %
III	Apresentaram de 31 % a 45 % de espermatozoides com o padrão "normais" caracterizado com cabeças ovais	82 %
IV	Apresentaram de 46 % a 60 % de espermatozoides com o padrão "normais" caracterizado com cabeças ovais	91 %

1 - Quanto à fecundação

2 - Quanto à gestação

Nenhuma gestação foi observada nas mulheres dos maridos do Grupo I. No Grupo II foi observado 11 % de gestação. No Grupo III foi observado 18 % de gestação e no Grupo IV observou-se 25 % de gestações.

Baseado nestas evidências ficou determinado o valor do ponto de corte para 14% de espermatozoides com morfologia típica conforme os critérios aqui apresentados. O conjunto destes critérios constituem a MEE - Morfologia Espermática Estrita. Observa-se que nos Grupos II, III e IV, apesar do aumento de espermatozoides normais sobre o ponto de corte de 14%, pouca influência isto ocasionou na fertilização dos oócitos.

Em um estudo recente realizado por Esteves & Nakazato, (2) avaliando 26 homens com varicocele (varizes ao redor do testículo que podem causar infertilidade) e menos de 14% de espermatozoides identificados como morfológicamente "normais", verificou-se que a correção microcirúrgica da varicocele melhorou os resultados da MEE- Morfologia Espermática Estrita em 50% dos casos. Esta melhora foi acompanhada de taxas de gravidez mais elevadas, quando comparadas ao grupo de homens cuja morfologia não se alterou após a cirurgia.

DESCRIÇÃO DO CASO

1 – Paciente

1.1 – Dados pessoais

Paciente do sexo masculino de nome J. P. D. , 32 anos, casado, sem filhos, Técnico em Química. Em 2002 ele procura os cuidados de um Andrologista e de um Especialista em Reprodução Humana aos quais relata a infertilidade conjugal há pelo menos três anos de existência.

1.2 – Exames de laboratório

Relata também ter realizado quatro Espermogramas e sendo todos eles classificados pelo paciente como "normais". Apresentou-se com um resultado da Espermocultura que relata a ausência de crescimento de microorganismo representativo.

Relata ainda haver realizado o PHA - Perfil Hormonal Andrológico. Os resultados, intervalos de valores de referência e fundamento do método de exame foram:

Testosterona: 789,0 ng/dl, Intervalo de referência 286 a 1.511 ng/dl, Quimioluminescência

Hormônio folículo estimulante, FSH: 4,5 mUI/ml Intervalo de referência: 1,5 a 14,0 mUI/ml, Quimioluminescência

Hormônio luteinizante, LH: 3,9 mUI/ml, Intervalo de referência 1,4 a 7,7 mUI/ml, Quimioluminescência

1.3 – Outros exames

O paciente apresentou o resultado do ultra-som Doppler Colorido que não revela dilatação das veias testiculares o que, por consequência exclui uma possível varicocele sub-

clínica. O paciente nega a existência de doenças infantis específicas, como criptorquidia ou orquite pós caxumba.

1.4 – Relato ocupacional

O paciente relata contato com produtos químicos para produção de cosméticos em ambiente de trabalho há pelo menos 5 anos.

1.5 – Exame físico

O exame físico do paciente revela caracteres sexuais secundários classificáveis como normais. Os seus testículos são de tamanho e consistência aceitos como normal. A próstata apresenta-se de tamanho e consistência aceitos como normal.

O paciente nega dor testicular. Ele ainda relata que a sua esposa passou por vários exames clínicos e laboratoriais e nada foi encontrado de “anormal”.

2 – Avaliação com a MEE – Morfologia Espermática Estrita

Foi solicitado do paciente a avaliação dos espermatozóides empregando a Morfologia Espermática Estrita ou Morfologia de Kruger e que ocorreu no Instituto de Prevenção e Diagnóstico Prof. Dr. J.Janini.

2.1 - Esfregaço

Com o esperma do paciente foi confeccionado um “esfregaço” e corado posteriormente pelo método de Papanicolaou.

2.2 – Microscopia

O esfregaço corado foi examinado no microscópio ótico com a ampliação de 1.000 obtida pelo uso de uma ocular de 10 vezes de ampliação e de uma objetiva de 100 vezes de ampliação, com o emprego de óleo de imersão.

2.3 – Contagem

No esfregaço foram contados com a ampliação de 1.000, 500 espermatozóides e que durante a contagem foram classificados quanto ao aspecto morfológico observado.

Os espermatozóides foram classificados em “normais” conforme o padrão anteriormente descrito. O Espermogram mostrou-se particularmente útil neste momento, pois permitiu que dúvidas morfológicas fossem dirimidas com segurança e rapidez.

O resultado da contagem dos 500 espermatozóides na amostra de esperma examinada é descrito em 4 grupos. O primeiro grupo descreve a quantidade em porcentagem daqueles espermatozóides classificados como “normais”. A figura 1, que pode ser encontrada no espermogram evidencia este tipo de espermatozóide. O segundo grupo representa os espermatozóides com alterações da cabeça, acrossoma e do núcleo com as respectivas quantidades expressas, quando presentes, em porcentagem. Nas figuras 2 a 6 podem ser vistos espermatozóides representativo deste grupo. As diferentes alterações morfológicas são as descritas e para o paciente em questão os valores observados são

os assinalados. O terceiro grupo representa os espermatozóides com alteração da peça intermediária. As alterações que podem ser observadas são as descritas e os valores representam os encontrados neste paciente. As figuras 7 a 9 apresentam espermatozóides característicos deste grupo. O quarto grupo descreverá as alterações do flagelo e da cauda, sendo os tipos delas os descritos e os valores são os encontrados no esperma deste paciente. Observando as figuras 10 a 12, podem ser vistos os espermatozóides representativos deste grupo

COMENTÁRIOS

A Morfologia Espermática Estrita deste paciente revelou a presença de 93 % de espermatozóides atípicos, sendo que 40 % deles apresentaram-se com vacúolos no acrossoma. Este fato é a provável causa da infertilidade deste paciente, pois é esperável que estes espermatozóides apresentem deficiência de enzimas acrossomiais (Acrosina e Hialuronidase) e que são extremamente necessárias para a penetração destes na zona pelúcida do óvulo.

Atente que essa importante alteração acrossomial, nada in-

Grupo	Descrição	%	Figura
1	ESPERMATOZÓIDES NORMAIS	7	1
2	ESPERMATOZÓIDES COM ALTERAÇÕES DA CABEÇA, ACROSSOMA E NÚCLEO		
2.1	ANOMALIAS DA CABEÇA	3	2
	Cabeça simplesmente alongada		
	Cabeça alongada com extremidade afilada		
	Cabeça alongada com extremidade em forma de sineta		
	Cabeça alongada		
2.2	OUTRAS ANOMALIAS DA CABEÇA		
	Cabeça em forma de fita ou Tapering	4	3
	Espermatozóides microcéfalos de cabeça redonda semacrossomas	5	4
	Espermatozóides microcéfalos de cabeças triangulares com pequeno acrossoma	9	5
	Espermatozóides microcéfalos com redução total –microespermatozóides		
	Espermatozóides macrocéfalos (cabeça grande –macroespermatozóide)		
	Espermatozóides de cabeças irregularesEspermatozóides com alterações nucleares		
	Espermatozóides em picnoses (cabeças com núcleo picnótico)		
	Espermatozóides em cromatólise (cabeça com núcleo emcromatólise)		
	Espermatozóides acéfalos – ausência de cabeça		
	Espermatozóides de cabeças duplas		
	Dupla cabeça úmida pela peça intermediária com uma só caudaCabeça com núcleo filamentosos		
	Alteração nuclear – região pós – acrossomial estreita		
	Alteração nuclear – região pós – acrossomial alargada		
	Ausência de acrossomas		
	Acrossomas com vacúolos	40	6
3	ESPERMATOZÓIDES COM ALTERAÇÕES DA PEÇA INTERMEDIÁRIA		
3.1	Peça intermediária com presença de restos citoplasmática	10	7
3.2	Peça intermediária mostrando uma angulação entre a cabeça e acaudaa nível de sua parte médialdem, porém ao nível de sua parte final	8	8
	Restos citoplasmáticos com vacúolo na peça intermediária		
	Peça intermediária com vacúolo citoplasmático degenerativo		
	Alterações da peça intermediária		
	Angulação na peça intermediária		
3.3	Dois espermatozóides unidos pela peça intermediária	3	9
	Peça intermediária com restos citoplasmáticos e em angulação		
	Três espermatozóides unidos pela peça intermediária		
4	ESPERMATOZÓIDES COM ALTERAÇÕES DA CAUDA OU FLAGELO		
4.1	Espermatozóides de flagelos curtos	5	10
4.2	Espermatozóides de flagelos totalmente enrolados		
4.3	Espermatozóides de flagelos enrolados na parte distal		
4.4	Espermatozóides de flagelos duplos	2	11
4.5	Espermatozóides com flagelos espessos	4	12
4.6	Espermatozóides com ausência de flagelos (cauda)		



Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3

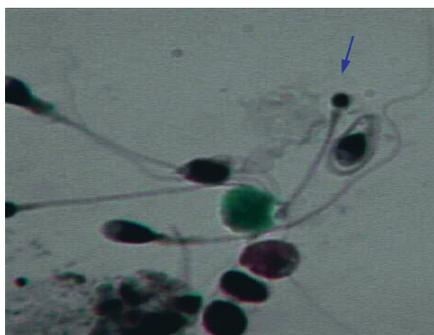


Fig. 4



Fig. 5



Fig. 6



Fig. 7



Fig. 8



Fig. 9



Fig. 10



Fig. 11



Fig. 12

terfere na motilidade, na vitalidade e na concentração espermática, pois este paciente apresentava, conforme relato dele, todos os Espermogramas "normais", no concernente à estes aspectos.

A exposição à produtos químicos pode ser a causa da Teratospermia (mal formação dos espermatozóides) e que foi

evidenciada neste paciente pelo espermograma realizado. Por este motivo, foi solicitado ao paciente que mude de setor em seu local de trabalho, que evite o contato com esta fonte de risco e que faça avaliações periódicas da Morfologia Espermática Estrita.

CONCLUSÃO

O paciente apresenta alterações na morfologia estrita segundo os critérios de Kruger que possibilitam prever prognóstico ruim para a fertilização por vias naturais (in vivo) e bom prognóstico para inseminação intra-uterina (in vitro), desde que sejam também consideradas as recomendações para a não exposição ao risco químico.

REFERÊNCIAS

- 1 - Pereira O.S./Janini J.B.M. - Atlas de Morfologia Espermática. 1ª ed. 2001
- 2 - Neves e Rodrigues - Infertilidade Masculina. 1ª ed. 2002

- 3 - Manual de Laboratório para o Exame do Sêmen Humano - OMS - 3ª edição
- 4 - Piva S. - Espermograma. 1ª ed. 2001
- 5 - Galba - Espermocitograma. 1ªed. 1994
- 6 - M.M.Adelman, E.M.Cahill - Atlas of Sperm Morphology.1ª ed.1989
- 7 - Henry J.B. - Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais.19ª ed.

Endereço para Correspondência

Orildo dos Santos Pereira (osp@bol.com.br)

Rua São João Del Rei, 28

37.044-580 - Varginha MG

Título de Especialista em Análises Clínicas

O que é e como obtê-lo?

O TEAC – Título de Especialista em Análises Clínicas, é um documento outorgado pela SBAC – Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, no qual somente os profissionais que exercem as Análises Clínicas, e que sejam legalmente habilitados para assumirem a responsabilidade técnica por Laboratórios Clínicos, de acordo com a legislação federal vigente no país, é que podem prestar o Concurso para obter o Certificado do Título de Especialista em Análises Clínicas.

Para se inscrever no concurso do TEAC, os candidatos deverão solicitar o regulamento e ficha de inscrição à SBAC Nacional ou nas Regionais/Delegacias, por fax, telefone, e-mail, carta ou pessoalmente.

Condições para inscrição no Concurso do TEAC:

1. Os candidatos habilitados a prestarem o Concurso são: Farmacêutico-bioquímico, Médico e Biomédico.
2. Ser sócio da SBAC efetivo e estar em dia com os seus deveres estatutários.
3. Preencher ficha de inscrição, colocando quais as matérias de peso 03 e 02.
- 3.1 O candidato obrigatoriamente terá que escolher as matérias de peso 03 e 02, a peso 03 deverá ser a matéria de maior conhecimento do candidato, e peso 02 a Segunda matéria de maior conhecimento do candidato, as outras matérias contarão como peso 01.
4. Pagar taxa de inscrição do concurso.
5. Para os inscritos no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, haverá desconto de 50% na taxa de inscrição do Concurso do TEAC.
6. Após estes procedimentos, o candidato tem direito de receber o Programa do Concurso (impresso ou em disquete).

As Disciplinas:

- 1 – De acordo com o Programa o Candidato é avaliado pela Banca Examinadora do Concurso, no qual terá que ser aprovado nas seguintes Especialidades das Análises Clínicas:
 - Bioquímica Clínica;
 - Hematologia Clínica;
 - Imunologia Clínica;
 - Microbiologia Clínica;
 - Parasitologia Clínica.
- 2 – O conteúdo programático do Controle da Qualidade e da Segurança, é aplicado a essas disciplinas.
- 3 – Excepcionalmente o candidato também poderá ter como opção a matéria de Citologia Esfoliativa, sendo obrigatoriamente a primeira opção. Neste caso, o candidato também terá que se inscrever no Concurso para obtenção do TECC - Título de Especialista em Citologia Clínica, pela SBCC – Sociedade Brasileira de Citologia Clínica, sendo aprovado receberá o certificado pela SBCC.
- 4 – Tendo sido aprovado no Concurso para obtenção do TECC, e no Concurso para obtenção do TEAC, o Certificado do Título de Especialista em Análises Clínicas, terá o apostilamento em Citologia Esfoliativa no verso do Certificado.

5 – Não tendo sido aprovado no Concurso para obtenção do TECC, e sendo aprovado no Concurso do TEAC, o candidato terá o Certificado do Título de Especialista em Análises Clínicas, sem o apostilamento em Citologia Esfoliativa.

6 – Os portadores do Título de Especialista em Análises Clínicas, que se submeterem à prova para obtenção do TECC, pela SBCC e forem aprovados, terão seus Títulos apostilados no verso a especialidade de Citologia Esfoliativa.

As Provas:

O Concurso do TEAC é composto das Provas Escritas, Práticas de Conhecimento (dissertativa, Oral e Slide) e de Títulos (exercício profissional e atualização de conhecimentos).

Obs: a avaliação em Citologia pela SBCC, será Prova Escrita, Prática e Avaliação curricular.

Avaliação da Prova de Títulos a Outorga do TEAC:

Os Candidatos aprovados, terão que enviar num prazo máximo de 2 anos (de acordo com o Regulamento do TEAC), Currículo Vitae e cópia de documentação comprobatória de exercício profissional e atualização de conhecimentos.

Validade do TEAC:

O TEAC é um documento que tem validade de 05 (cinco) anos, de acordo com o seu Regulamento. Sendo assim, após 5 (cinco) anos da data de outorga ou da data da última renovação do Título de Especialista o profissional terá que comprovar que continua exercendo a profissão e que se atualizou nos últimos cinco anos, enviando os documentos que somem 2.000 pontos de acordo com o Capítulo III – Da Avaliação, Artigo 8º, do Regulamento do TEAC.

O Portador do TEAC que, na renovação não atingir o valor de pontos determinado no Regulamento, poderá submeter-se as Provas de Conhecimentos, que serão avaliadas, de acordo com o item 1 do Artigo 8º.

Próximo Concurso do TEAC e TECC:

Os próximos Concurso para Outorga do Título de Especialista em Análises Clínicas e Concurso para outorga do Título de Especialista em Citologia Clínica será realizado durante o 32º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas e 5º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica, nos dias 22 e 26 de maio de 2005, em Goiânia – GO.

Para os inscritos no 32º congresso Brasileiro de Análises Clínicas e 5º congresso Brasileiro de Citologia Clínica, haverá um desconto de 50% nas inscrições.

Caso ainda não esteja inscrito no congresso, o interessado deverá fazê-lo até 30 dias antes do início do evento.

Informações gerais:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC

Tel/fax (0xx21) 2264-4449 e 2204-0245 ou e-mail: teac@sbac.org.br

Sociedade Brasileira de Citologia Clínica - SBCC

Tel/fax (0xx62) 229-0468 e 223-5661 ou

e-mail: sbacc@terra.com.br