

RBAC

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

SUMÁRIO

Fatores que podem comprometer a qualidade dos exames citopatológicos no rastreamento do câncer do colo do útero.....	3
<i>Rita Goreti Amaral; Andrea Alves Ribeiro; Fabiana Alves de Miranda; Suelene Brito do Nascimento Tavares; Nadja Lindany Alves Souza; Edna Joana Cláudio Manrique; Zair Benedita Pinheiro de Albuquerque & Gislaire Ap. Fonseca-Carvasan</i>	
Avaliação do sistema staph-id para a identificação de staphylococcus isolados a partir de espécimes clínicos humanos.....	7
<i>Carlos Henrique Pessôa de Menezes & Silva; Alessandro Pereira Lins & Caroline Sathier Oliveira da Cruz</i>	
Evaluation of staph-id system for identification of staphylococcus from human clinical isolates	11
Síndrome de Bernard-Soulier.....	11
<i>Daniela Espíndula de Quadros</i>	
Bernard-Soulier Syndrom	15
Toxoplasmose: perfil sorológico de mulheres em idade fértil e gestantes.....	15
<i>Luiza Detanico & Rita Maria Callegari Basso</i>	
Toxoplasmosis: serological profile of childbearing age and pregnant women	19
Bacteriúria assintomática em gestantes do Centro de saúde ambulatorial Abdoral Machado, Crateús- CE.	19
<i>Nádia Accioly P. Nogueira & Maria Aparecida A. Moreira</i>	
Asymptomatic bacteriuria in pregnant women of the Centro de saúde ambulatorial Abdoral Machado, Crateús - CE.	23
Avaliação dos parâmetros sanguíneos de hepatotoxicidade em coelhos normais submetidos a tratamentos com antocianina e antocianina + naringenina.....	23
<i>Joselito Nardy Ribeiro; Tânia Toledo de Oliveira; Tanus Jorge Nagem; Davilson Bragine Ferreira Junior & Aloisio da Silva Pinto</i>	
Evaluation in the sanguine paramters of hepatotoxicity in normal rabbits submitted to treatment with anthcyanin and anthocyanin + naringenin	29
Índice de concordância entre dois diferentes observadores na revisão de esfregaços citológicos cérvico-vaginais anteriormente diagnosticados como ASC-US: utilização da técnica convencional de Papanicolaou*.....	29
<i>Rodrigo de Almeida Vaucher; Fábio Roberto dos Santos & Vera Regina Andrade Vargas</i>	
Indices of concordance between two different observes in reviews of cervical/vaginal cytologic smears after diagnostics of ASC-US: utilization of the conventional Papanicolaou test	35
Perfil de resistência da bactéria da espécie Serratia marcescens isolada de infecções hospitalares no Hospital Geral de Fortaleza (H.G.F.)*.....	35
<i>Fábio Frota de Vasconcelos, Everardo Albuquerque Menezes, Francisco Afrânio Cunha, Maria Núbia Cavalcante Salviano, Maria Rozellê Ferreira Ângelo & Inácio Régis Nascimento Oliveira</i>	
Resistance profile of the Serratia marcescens bacterium species isolated in hospital infections within the Fortaleza General Hospital (H.G.F.)	39
Levantamento de Protozooses e Vermínoses nas sete creches municipais de Uruguaiãna, Rio Grande do Sul - Brasil*.....	39
<i>Eder Mauro Silveira Chaves; Letícia Vazquez; Kellen Lopes; Juliana Flores; Liliane de Oliveira; Lisiane Rizzi; Emil Youssef Fares & Marcus Querol</i>	
Setting up of protozooses and verminosis in the seven municipal day care centers of Uruguaiãna, Rio Grande do Sul - Brazil.*	43
Presença de hiper-homocisteinemia em pacientes portadores de três fatores de risco para doença cardiovascular: hipertensão, tabagismo e histórico familiar.....	43
<i>Nilton Rosini; Andreza Diegoli Rosini; Donaída Maria Mousse; Maria de Lourdes Rovaris & Marcos José Machado</i>	
The presence of homocysteinemia in patients carrying three risk factors for cardiovascular diseases: hypertension, smoking habit and family history.	47
Prevalência do polimorfismo G1793A da metilenotetrahidrofolato redutase em idosos - Itajaí, (SC).....	47
<i>Darlene Camati Persuhn, Daniela Sackl, Thaisa Lara Schütz & Sandra Soares Melo</i>	
Prevalence of mthfr G1793A polymorfism in elderly- Itajaí, (SC)	51
Infecção do trato urinário: comparação entre o perfil de susceptibilidade e a terapia empírica com antimicrobianos.....	51
<i>Larissa Bail; Carmen Antônia Sanches Ito & Luís Antônio Esmerino</i>	
Urinary tract infection: comparison between susceptibility profile and empirical therapy with antimicrobials	57
Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase: dados de prevalência em pacientes atendidos no Hospital Universitário Onofre Lopes, Natal - RN*.....	57
<i>Carlos Rômulo Filgueira Mauricio, Ranieri Duarte Maia, Silvia Maria Varela de Queiroz, Maria das Graças Moreira de Araújo, Rosinete Guedes Carvalho de Miranda & Tereza Maria Dantas de Medeiros</i>	
Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: prevalence in patients attended in Hospital Universitário Onofre Lopes, Natal - RN	61
Eficácia da Terapia Antirretroviral e Avaliação da Apoptose em Pacientes Tratados em Diferentes Estágios da Infecção pelo HIV*.....	61
<i>Joel da Cunha; Giovana L. Baggio; Odilon S. Júnior; Júlio C. Verdi; Arício Treitinger & Celso Spada</i>	
Efficacy of the Antiretroviral Therapy and Evaluation of Apoptosis in Patient Treated Differents Periods of the Infection for HIV	

1

VOLUME 38

2006

Novas Tendências

Ulisses Tuma

De tempos em tempos temos de nos renovar. Sempre por uma infinidade de motivos. Com uma sociedade absolutamente atuante no seu mercado, como a SBAC, não poderia ser diferente. Nos últimos 02 anos temos nos renovado e aumentado, significativamente a nossa participação junto aos laboratórios clínicos de todo o país.

Criamos um conjunto de produtos e projetos para atender aos interesses não apenas dos que compõem a sociedade, mas, sobretudo aos interesses do mercado. E o mercado de laboratórios clínicos no Brasil passa por um período de reformulação como jamais visto. Desde a mudança na legislação, com a RDC 302 da ANVISA, como a maior visibilidade da necessidade de aprender a gerenciar o laboratório como um negócio ajudando a reformular inclusive, grades de currículos de cursos de graduação em universidades pelo nosso país. Desde um congresso mais dinâmico e com preocupação total com o resultado para o congressista à criação de cursos de especialização em várias unidades pelo Brasil. Desde a reformulação do papel da SBAC na sociedade até a postura de defender os interesses dos laboratórios contra vieses e problemas de âmbito geral.

A grande lição que tiramos de tudo isso é que se a SBAC como a maior sociedade na área de laboratórios clínicos do país, entendeu a necessidade de se reestruturar e se adaptar para enfrentar um mercado cada vez mais competitivo. Porque o seu laboratório não pode fazer o mesmo?

Não importa o tamanho, nem a área de atuação. Muito menos o número de funcionários ou exames que você faça. O que realmente importa é que você acredite que pode fazer a diferença. Hoje com a RDC 302 da ANVISA, sendo implantada em todo o país, temos uma oportunidade muito interessante de evoluir, crescer, desenvolver para atender aos nossos clientes de forma muito mais profissional.

A RDC 302 da ANVISA, terá um papel de destaque no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas este ano a ser realizado em Curitiba. Mesas redondas, Workshops e cursos tratarão especificamente o tema com a importância que ele merece. Seja para o pequeno ou grande laboratório. Além disso, os assessores científicos do Programa Nacional de Controle de Qualidade estão orientados a tirar as dúvidas dos laboratórios de todo o país que entrarem em contato com o PNCQ. Independente de ser participante ou não do Programa.

Todos temos a plena consciência das dificuldades para implantação da RDC 302 da ANVISA. Mas, ela é necessária e será um divisor de águas no mercado. Evoluindo sistemas da qualidade e melhorando a gestão do laboratório em si.

E assim como a SBAC foi capaz de se renovar para melhorar para atender às suas necessidades e expectativas como profissional de análises clínicas, você e seu laboratório também são absolutamente capazes de fazer isso pelos seus clientes.

Conte com a SBAC!!

Basta querer e agir!

Dr. Ulisses Tuma é Presidente da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas.

Diretor Responsável

Prof. Mateus Mandu de Souza

Vice-Diretor

Prof. João Ciribelli Guimarães

Este periódico é órgão oficial da SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS – SBAC, e destinado à divulgação de trabalhos científicos, observações pessoais, informações de interesse geral em defesa da classe dos que militam no ramo das análises clínicas, constituindo elo de união dos profissionais e fonte de estímulo na aquisição de conhecimentos que melhor os capacitem no desempenho da profissão, em benefício da comunidade.

Assinatura Anual: R\$ 100,00
Exterior US\$ 60.

Indexada no LILACS – www.bireme.br
www.bireme.br/abd/P/lista_geral.htm

Portão periódicos – www.periodicos.capes.gov.br

Classificação CAPES: Qualis Nacional B

Farmácia, Medicina, Odontologia

www.capes.gov.br - <http://qualis.capes.gov.br/pesquisa/ServletPesquisa>

Tiragem: 4.000 exemplares

Bioquímica – Dr. Álvaro Largura (PR), Dr. Marcelo Quintão Mendes (MG), Dr. Geraldo Pichet (PR), Dra. Marileia Scartezini (PR), Dr. Arício Treitinger (SC), Dr. Paolo Mocarelli (ITA), Dra. Dulcineia Saes Parra Abdalla (SP), Dr. Ary Henrique Filho (Urinálise) (GO), Dr. Daniel Mazziota (AR), Dr. Antenor Henrique Pinto Pedrazzi (SP), Dra. Jane Maciel Almeida Baptista (MG), Dra. Marinez Oliveira Sousa (MG), Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ)

Citologia – Dr. Ely Chaves (PB), Dra. Rita Maria Amparo Bacelar Palhano (MA), Dr. Sebastião Ferreira Marinho (AM), Dr. Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), Dr. Carlos Eduardo Queiroz Lima (PE), Dra. Rita Gorete Amaral (GO), Dr. Alexandre Onofre (SE), Dra. Silvia Helena Rabelo Guimarães (GO)

Controle de Qualidade – Dr. José Abol Corrêa (RJ), Dr. Luís Fernando Barcelos (RS)

Endocrinologia – Dr. Carlos Alberto Camargo (SP), Dra. Ana Maria Menezes (SP)

Toxicologia – Dra. Regina Helena Queiroz (SP), Dra. Maria da Graça Almeida (RN)

Microbiologia – Dr. Antônio Márcio Lopes (MG), Dr. Mateus Mandu de Souza (RJ), Dr. João Ciribelli Guimarães (RJ), Dr. Estevão José Colnago (RJ), Dr. Amauri Simonetti (RS), Dra. Cassia Maria Zoccoli (SC), Dra. Carmen Paz Oplustil (SP)

Imunologia – Dr. Paulo Jaconi Saraiva (RS), Dr. Antônio Walter Ferreira (SP), Dra. Adelaide José Vaz (SP)

Parasitologia – Dr. Antônio Pedro Soares (MG), Dr. Paulo S. Minami (SP), Dr. Geraldo Atilio De Carli (RS), Dr. Jerolino Lopes Aquino (MT)

Micologia – Dr. Paulo Murillo Neufeld (RJ), Dra. Maria José Gianini (SP), Dra. Regina Célia Candido (SP)

Biologia Molecular – Dr. Mario Hiroyuki Hirata (SP), Dr. Rosário Domínguez Crespo Hirata (SP), Dr. Marcelo Mascarenhas (RS), Dra. Kelly Melo (SP)

Hematologia – Dr. Jorge Fernando Teixeira Soares (RJ), Dr. Marcos Kneip Fleury (RJ), Dr. Celso Spada (SC), Dr. Paulo César Naoum (SP), Dr. Julio Cezar Merlin (PR), Dr. Paulo Henrique da Silva (PR)



SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS®

FILIAÇÃO

IFCC - INTERNATIONAL FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE
COLABIOCLI - CONFEDERACIÓN LATINOAMERICANA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS
CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE
AMN - ASOCIACION MERCOSUR DE NORMALIZACION
ONA - ORGANIZAÇÃO NACIONAL DE ACREDITAÇÃO

Rua Vicente Licínio, 99 • Tel.: (0XX21) 2187-0800 • Fax: (0XX21) 2187-0805
Rio de Janeiro • RJ • 20270-902
Home page: www.sbac.org.br • e-mail: geral@sbac.org.br

Diretoria Presidente

Dr. Ulisses Tuma (GO)

Vice-Presidente

Dr. Ireneu Keiserman Grinberg (RS)

Secretária Geral

Dra. Elvira Maria Loureiro Colnago (RJ)

Secretário

Dr. Celso Rubens Loques Mendonça (RJ)

Tesoureiro

Dr. Estevão José Colnago (RJ)

Tesoureiro Adjunto

Dr. Francisco Edison Pacifici Guimarães (RJ)

MEMBROS DO CONSELHO FISCAL

Titulares: Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Dra. Geruza Maria Caldas Maia (RN),
Dr. Tarcísio de Oliveira Moura (PE)

Suplente: Dr. Homero Jackson de Jesus Lopes (MG)

COMISSÃO DE NORMAS E HABILITAÇÃO

Coordenação: Dra. Elvira Maria Loureiro Colnago (RJ)

Membros: Prof. Carlos Adalberto de Camargo Sannazzaro (SP), Prof. Durval Mazzei Nogueira (SP), Dr. Estevão José Colnago (RJ), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Dr. Luiz Fernando Barcelos (RS), Prof. Mateus Mandu de Souza (RJ), Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ), Prof. Raimundo Diogo Machado (RJ), Dr. Willy Carlos Jung (SC)

DIRETOR DE CURSOS

Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ)

REPRESENTANTES:

IFCC: Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ),

Dr. Ulisses Tuma (GO)

COLABIOCLI: Dr. Ulisses Tuma (GO), Dr. José Abol Corrêa (RJ)

AMN - Asociacion Mercosur de Normalización:

Dr. Willy Carlos Jung (SC), Dr. Luiz Fernando Barcelos (RJ)

ONA – Organização Nacional de Acreditação:

Dr. José Abol Corrêa (RJ)

Governamental: Dr. Ulisses Tuma (GO), Dr. José Abol Corrêa (RJ), Dr. Ireneu Keiserman Grinberg (RS)

PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE DA QUALIDADE

Coordenação: Dr. José Abol Corrêa (RJ)

Assessores: Dr. Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), Dra. Elvira Maira Loureiro Colnago (RJ), Dr. Estevão José Colnago (RJ), Dr. Francisco Edison Pacifici Guimarães (RJ), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Dr. Marcos Kneip Fleury (RJ), Prof. Mateus Mandu de Souza (RJ), Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ), Dr. Paulo Murillo Neufeld (RJ), Dra. Thaís Lisboa Machado (RJ)

COMISSÃO DE CONGRESSOS

Membros: Dr. Álvaro largura (PR), Prof. Carlos Adalberto de Camargo Sannazzaro (SP), Dr. José Abol Corrêa (RJ), Dr. Tarcísio de Oliveira Moura (PE), Dr. Ulisses Tuma (GO), Dr. Elias José Cury Júnior (GO), Dra. Maria Ordália Ferro Barbosa (GO)

INFORMATIVO DA SBAC

Membros: Dr. Antônio Jaguaribe Neto (RJ), Dr. Estevão José Colnago (RJ), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Dr. José Abol Corrêa (RJ), Prof. Raimundo Diogo Machado (RJ), Dr. Willy Carlos Jung (SC)

CONSELHO DELIBERATIVO

Membros Natos: Prof. Ediláudio Luna de Carvalho (PB), Dr. Evanyr Seabra Nogueira (RJ), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Dr. José Abol Corrêa (RJ), Prof. Mateus Mandu de Souza (RJ), Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ), Dr. Ney Haushahn (RJ), Dr. Willy Carlos Jung (SC), Dr. Francisco Edison Pacifici Guimarães (RJ) Humberto Marques Tiburcio (MG)

REGIONAIS DA SOCIEDADE

Bahia: Presidente: Dr. Mário Martinelli Júnior - Vice-Presidente: Dr. Gildásio Carvalho - Secretário: Dr. Petrólio Primo Coelho - Tesoureiro: Dr. Luiz Roberto de Carvalho - Tesoureiro Adjunto: Dr. Anderson Lobo Alvim;

Ceará: Presidente: Dr. Francisco Einstein do Nascimento - Vice-Presidente: Dr. José Antonio Perez Silveira - Secretária: Dra. Maria Guilhermina Jaborandy Rodrigues - Tesoureiro: Dra. Zirlane Castelo Branco Coelho - Tesoureira Adjunta: Dra. Maria Iracema de Aguiar Patrício; **Distrito Federal:** Presidente: Dr. Antônio Alves de Sousa - Vice-Presidente: Dr. Paulo Roberto Sabino Júnior - Secretário: Dr. José Persival Rico - Tesoureiro: Dr. Hélio José de Araújo; **Goias:** Presidente: Dr. Elias José Cury Júnior - Vice-Presidente: Dr. Ulisses Tuma - Secretária: Dra. Cristina Lobo Batista de A. Bastos - Tesoureira: Dra. Maria Ordália Ferro Barbosa;

Minas Gerais: Presidente: Dr. José Ronaldo Cardoso - Vice-Presidente: Dr. José Alair Couto - Secretário: Dr. Vicente Odail de Souza Espíndola - Tesoureiro: Dr. Glauco de Paulo B. Silveira; **Paraná:** Presidente: Dr. Marcelo Pilonetto - Vice-Presidente: Dr. Paulo Hatschbach - Secretário: Dr. Samuel Ricardo Comar - Tesoureiro: Dr. Luciano André Perini;

Pernambuco: Presidente: Dr. Jurandi David da Silva - Vice-Presidente: Dr. João Gonçalves Júnior - Secretária: Dra. Maria Amélia Vieira Maciel - Tesoureiro: Dr. José Araújo de Carvalho; **Rio Grande do Norte:** Presidente: Dra. Geruza Maria Caldas Maia - Vice-Presidente: Dra. Ligianne Revoredo Bezerra - Secretária: Dra. Maria da Conceição Silva Fernandes - Tesoureira: Dra. Dóris Cavalcante Huguénin;

Rio Grande do Sul: Presidente: Dra. Alzira Resende do Carmo Aquino - Vice-Presidente: Dr. Marcello Ávila Mascarenhas - Secretária: Maria Cristina Bispo Freitas - Tesoureira: Dra. Carmen Pilla;

DELEGADOS DA SOCIEDADE

Alagoas: Dr. José Pereira Mendes Júnior; **Amazonas:** Dr. Sebastião Ferreira Marinho; **Espírito Santo:** Dr. Henrique Tommasi Netto; **Maranhão:** Dra. Rita Maria do A. B. Palhano; **Mato Grosso:** Dr. Jerolino Lopes Aquino; **Mato Grosso do Sul:** Dra. Lenilde Brandão Araújo; **Pará:** Dr. Sérgio Luiz Vasconcelos do Vale; **Paraíba:** Dra. Tereza Cristina Davi Marques; **Piauí:** Dr. Leonardo Ferreira Soares; **Rondônia/Acre:** Dra. Alba Lucia Cordeiro Alves; **Santa Catarina:** Dr. Caio Roberto Salvinio; **São Paulo:** Dr. Mário Hiroyuki Hirata; **Sergipe:** Dra. Maria da Conceição L. Oliveira; **Tocantins:** Dr. Francisco Wellington Macedo.

Fatores que podem comprometer a qualidade dos exames citopatológicos no rastreamento do câncer do colo do útero

Factors that could be endanger to the quality of cervical smear to the screening in cervical cancer

Rita Goreti Amaral¹; Andrea Alves Ribeiro¹; Fabiana Alves de Miranda¹; Suelene Brito do Nascimento Tavares¹; Nadja Lindany Alves Souza¹; Edna Joana Cláudio Manrique¹; Zair Benedita Pinheiro de Albuquerque¹ & Gislaíne Ap. Fonsechi-Carvasan²

RESUMO - O exame citopatológico possui um importante papel na detecção das lesões precursoras e é o método mais utilizado no rastreamento do câncer do colo do útero, que se detectado precocemente há grande possibilidade de cura. O objetivo deste estudo foi avaliar o preenchimento da ficha de requisição em relação a informações clínicas e identificar as principais causas que tornam as amostras limitadas ou insatisfatórias para análise. Foram analisados 6000 exames citopatológicos em mulheres atendidas nas Unidades Básicas de Saúde de Goiânia. Verificou-se que a maioria das fichas não continham informações clínicas relevantes; 40,73% dos esfregaços não apresentavam células endocervicais e/ou metaplásicas e 30,00% apresentavam-se limitados por dessecação. Os principais fatores obscurecedores que tomaram os esfregaços insatisfatórios para análise foram esfregaços purulentos e áreas espessas. Estas não conformidades identificadas na fase pré-analítica podem ser minimizadas através de programas de capacitação e conscientização dos profissionais envolvidos na coleta dos exames citopatológicos.

PALAVRAS-CHAVE - Esfregaço cérvico-vaginal, adequabilidade da amostra, exames citopatológicos, câncer cervical.

SUMMARY - The cervical smear has an important role in the detection of the precursory lesions and it is one of the most efficient tools for detection of these lesions related to the screening of cervical cancer, because if it is previously detected, there is a good chance of cure.

The aim of the present study it was verify the filling in of the files of patients submitted to Pap smear screened in relation of clinics information and identify the main reasons that to get the cervical smear limited or unsatisfactory. It was checked that a big amount of clinic information had no answer or were not completed. It has been done a survey of 6000 in women who have been cervical smear in the care of Basic Units of Health. It was still noticed that 40,37% of the smears don't shown endocervical cells or metaplastics one and 30% of the smears shown limited for dessecation. And obscure factors (which made the smears unsatisfactory) were purulent and dense material.

These mistakes identified in pre-analytical could be softened through programs of capitations by improving professionals who are involved in realization of the cervical smear.

KEYWORDS - cervical smear, quality smears, Pap test, cervical cancer

INTRODUÇÃO

O exame citopatológico possui um importante papel na detecção das lesões precursoras do câncer do colo do útero, pois, quando diagnosticado precocemente, há grande possibilidade de cura, chegando perto de 100% e podendo ser tratado em nível ambulatorial em cerca de 80% dos casos².

No Brasil, as neoplasias cervicais representam a terceira causa de óbito geral na população feminina e, de forma geral, o câncer do colo do útero corresponde à cerca de 15% de todos os tipos de câncer feminino³.

Um dos maiores problemas que os laboratórios de citopatologia enfrentam em sua rotina são as altas taxas de resultados falso-negativos. Diversos estudos têm demonstrado que os resultados falso-negativos variam de 6% a 56% e as principais causas de erros estão relacionadas a erros de coleta, erros de escrutínio e de interpretação dos diagnósticos^{12,13}. Para reduzir estas elevadas taxas devem somar esforços de todos os profissionais envolvidos na realização dos exames citopatológicos. Na fase pré-analítica, o preenchimento correto da ficha de requisição, dados completos da mulher, informações clínicas relevantes e a identificação correta do material são de fundamental importância para melhorar a qualidade dos exames. A coleta deve ser realizada corretamente da ectocérvice e do canal endocer-

vical e a fixação deve ser imediata. Na fase laboratorial deve ter critérios padronizados de controle interno da qualidade, desde a recepção, técnica de coloração, análise, até emissão de laudos.

Uma característica do exame citopatológico é que predomina claramente o trabalho manual, desde a coleta do material até a emissão e liberação do resultado pelo laboratório. Portanto, o desempenho pode estar relacionado com a qualidade dos recursos humanos envolvidos. A participação destes profissionais em programas de educação continuada, aprimoramento individual e teste de proficiência é imprescindível¹.

Objetivo deste estudo foi avaliar o preenchimento da ficha de requisição em relação a informações clínicas e identificar as principais causas que tornam as amostras limitadas ou insatisfatórias para análise do exame que podem comprometer a qualidade dos diagnósticos citopatológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no Laboratório Rômulo Rocha, da Faculdade de Farmácia-UFG. Foram analisados 6000 exames citopatológicos em mulheres atendidas nas Unidades Básicas de Saúde de Goiânia no ano de 2002. O preenchimento da ficha de requisição, informações clínicas e a coleta do material citopatológico foram realizadas pelos auxi-

Recebido em 26/10/2004

Aprovado em 14/11/2005

¹Universidade Federal de Goiás/ Faculdade de Farmácia-Laboratório Rômulo Rocha

²Universidade Estadual de Campinas/Departamento de Tocoginecologia

liares de enfermagem, enfermeiros e médicos da rede básica de saúde. Os exames foram realizados pelos citologistas especialistas do Laboratório Rômulo Rocha. Os dados foram obtidos a partir das fichas de requisição e dos resultados dos exames citopatológicos, segundo a Nomenclatura Brasileira recomendada pelo Ministério da Saúde. O banco de dados foi elaborado no programa EPI-INFO 2002⁶ e a análise estatística realizada pelo programa SAS (SAS, 1999)¹⁵.

RESULTADOS

Na avaliação do preenchimento correto das fichas de requisição, observou-se que às informações clínicas solicitadas apresentaram-se sem respostas em 2,46% para o item Papanicolaou anterior e houve uma variação de 42,00% a 72,98% sem respostas para os demais itens (Tab. I).

Tabela I
Informações clínicas contidas na ficha de requisição do exame citopatológico

Informações clínicas	Sim		Não		Não Sabe		Sem resposta	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Uso do DIU	40	0,67	318	53,08	21	0,35	275	45,90
Papanicolaou anterior	4964	82,74	737	12,29	151	2,51	148	2,46
Grávida	155	2,59	313	52,25	53	0,88	266	44,28
Anticoncepcional	737	12,29	272	45,38	19	0,32	252	42,01
*TRH	206	3,43	274	45,62	18	0,30	304	50,65
Tratamento por radioterapia	18	0,30	278	46,30	55	0,92	315	52,48
Sangramento pós relação	309	5,15	281	46,87	17	0,28	286	47,70
Sangramento pós menopausa	40	0,67	158	26,35	0	0,0	438	72,98

* TRH- Terapia de Reposição Hormonal

Em relação a informações sobre a inspeção do colo e se havia sinais de DST 36,82% e 55,13% estavam sem respostas, respectivamente (Tab. II).

Tabela II
Informações da inspeção do colo e de sinais de DST contidas na ficha de requisição

Inspeção do colo	n	%
Normal	2849	47,48
Alterado	703	11,72
Ausente	95	1,58
Colo não visualizado	144	2,40
Sem resposta	2209	36,82
Total	6000	100
*Sinais DST		
Não	2131	35,52
Sim	561	9,35
Sem resposta	3308	55,13
Total	6000	100

*DST- Doença Sexualmente Transmissível

De acordo com a adequabilidade da amostra os esfregaços foram classificados como satisfatórios, satisfatório, porém apresentado fatores que limitam parcialmente a análise e insatisfatório em 40,58%, 58,27% e 0,92% respectivamente e 0,23% exames estavam sem informações (Tab. III).

Tabela III
Adequabilidade da amostra: Esfregaços satisfatório, satisfatório porém limitado e esfregaço insatisfatório

Qualidade da amostra	n	%
Esfregaço Satisfatório	2435	40,58
Esfregaço Satisfatório , mas limitado	3496	58,27
Esfregaço Insatisfatório	55	0,92
Sem informação	14	0,23
Total	6000	100

Os principais fatores que limitaram a análise dos exames foram ausência de células endocervicais em 40,73%, dessecamento em 30%, purulento em 14,82% e áreas espessas em 11,73% (Tab. IV).

Tabela IV
Fatores que limitam parcialmente ou tornam os esfregaços insatisfatórios para a análise

Esfregaço satisfatório, mas limitado	n	%
Ausência de células endocervicais	1424	40,73
Dessecamento	1049	30,00
Purulento	518	14,82
Áreas espessas	410	11,73
Presença de sangue	94	2,69
Ausência de dados clínicos	1	0,03
Total	3496	100
Esfregaço insatisfatório	n	%
Purulento	21	38,19
Áreas espessas	18	32,73
Dessecamento	10	18,18
Escasso ou hemorrágico	6	10,90
Total	55	100

Os principais fatores que comprometeram a qualidade dos esfregaços tornando-os insatisfatórios para análise foram purulento, áreas espessas, dessecamento, em 38,19%, 32,73%, 18,18%, respectivamente (Tab. IV).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Este estudo mostrou que grande parte das informações clínicas presentes nas fichas de requisição estavam sem resposta ou incompletas. Isto pode ter ocorrido por falta de treinamento e informações sobre a importância do preenchimento correto da ficha ou sobrecarga do profissional durante o atendimento da mulher nas Unidades Básicas de Saúde. Estes resultados são consistentes com o estudo realizado no laboratório do LACEM em São Luiz-MA¹⁶. Em relação a adequabilidade da amostra, observou-se que 40,73% dos esfregaços não tinham representação da junção escamo-colunar (ausência de células endocervicais e/ou metaplásicas) conseqüentemente, podem comprometer a qualidade do exame citopatológico levando a um resultado falso-negativo. Estudos têm demonstrado que esfregaços com células endocervicais tem uma frequência significativamente mais alta e um alto grau de anormalidades escamosas detectadas do que esfregaços com falta de tais células, é na junção escamo-colunar que se originam a maioria das lesões precursoras do câncer de colo e que a

presença de um componente endocervical garante uma amostra adequada dessa região, aumentando a probabilidade da detecção de anormalidades cervicais^{1,9}.

Foram introduzidos novos tipos de instrumentos, a fim de diminuir os resultados falso-negativos, como espátulas modificadas a partir do tradicional modelo de Ayre e escovas de vários desenhos, para alcançar mais eficientemente as células da junção escamo-colunar, região onde se localiza a maioria das lesões mais jovens^{5,10,11,14,17,18}.

Outro fator importante para a qualidade do exame citopatológico é a fixação, e este é um dos grandes problemas que os laboratórios de citopatologia enfrentam em sua rotina. Neste estudo observou-se que 30,00% dos esfregaços apresentavam-se dessecados (mal fixados) limitando a análise. Os fatores obscurecedores que tornaram as amostras insatisfatórias foram purulento e áreas espessas, erros ocorridos na coleta que poderiam ser evitados com uma limpeza adequada do colo e distribuição adequada do material na lâmina.

Este estudo mostrou que as principais limitações apresentadas podem ser identificadas e minimizadas através de cursos de capacitação. Isto motivou a equipe de profissionais do Laboratório Rômulo-Rocha, da Faculdade de Farmácia-UFG, propor à Secretaria Municipal de Saúde um projeto de extensão com o objetivo de capacitar todos os profissionais da rede básica de saúde e do programa da saúde da família responsáveis pela coleta do exame citopatológico, visando melhorar ainda mais a qualidade destes exames, projeto este já iniciado.

Com o aprimoramento e a conscientização dos profissionais envolvidos na fase pré-analítica, através de programas de capacitação e educação permanente, os resultados dos diagnósticos citopatológicos poderão ser mais fidedignos e um número maior de lesões pré-malignas poderão ser diagnosticadas, contribuindo com a redução da incidência do câncer do colo do útero.

REFERÊNCIAS

1. ANDERSON, G.H.; FLYNN, K.J.; HICKEY, L.A.; LERICHE, J.C.; MATISIC, J.P.; SUEN, K.C. A comprehensive internal quality control system for a large cytology laboratory. *Acta Cytol*, 31:895-9, 1987.
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Prevenção do Câncer do Colo do Útero. Manual Técnico para Laboratórios. Brasília, DF, 2002a. 19 p.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer – INCA, Estimativas da incidência e mortalidade por câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2002 b.
4. BOSCH, M.M.C.; RIETVELD, S.P.E.M.; BOON, M.E. Characteristics of false negative smears. *Acta Cytol*, 36:711-6, 1992.

5. BUNTINX, F.; BROUWERS, M. Relation between sampling device and detection of abnormality in cervical smears: a meta-analysis of randomized and quasi-randomized studies. *Br Med J*, 313:1285-90, 1996.
6. EPI INFO. Epidemiology Program Office Division of Public Health Surveillance and Informatics. Latest Version: Epi InfoTM Version 3.2.2002. Disponível no site <http://www.cdc.gov/epiinfo/>
7. FAGUNDES, M.C.S. HARDT, L. L. SAITO, S. YAMOTO, L.S.U. LONGATTO FILHO, A. UTAGAWA, M.L. Amostra Inadequada em Screening de Esfregaços Cervicos - Vaginais: as Principais Causas. LAES & HAES n° 95, 1999.
8. KOSS, L. G. The Papanicolaou Test for Cervical Cancer detection. A Triumph and a Tragedy. *Jama*, 261:737-43, 1989.
9. KURMAN, R.J.; SOLOMON, D. O sistema de Bethesda para o relato de diagnóstico citológico cervicovaginal. Tradução por Dalton de Freitas Santoro. Rio de Janeiro: Revonter, 1997.
10. LUZZATTO, R.; PORTUGAL, J.L.; SILVA, R.; BRÜCKER N.; GRAUDENZ, M.; RECKTENVALD, M. Contribuição da escova endocervical para a acuidade do teste de Papanicolaou: estudo em 26.519 pacientes. *Rev AMRIGS*, 37:3-6, 1993.
11. MCCORD, M.L.; STOVALL, T.G.; MERIC, J.L.; SUMMITT, R. L.J.; COLEMAN, A.S. Cervical cytology: a randomized comparison of four sampling methods. *Am J Obstet Gynecol*, 166:1772-9, 1993.
12. MITCHELL, H.; MEDLEY, G. Differences between Papanicolaou smears with correct and incorrect diagnoses. *Cytopathol*, 6:368-75, 1995.
13. MITCHELL, H.; MEDLEY, G.; DRAKE, M. Quality control measures for cervical cytology laboratories. *Acta Cytol*, 32:288-92, 1988.
14. PLESSIS, J. M.D.; SCHAETZING, A.E.; WRANTZ, P.A.B.; LOUW, M. Aylesbury and cervitula spatulas. A comparative study to assess the adequacy of cervical smears. *Acta Cytol*, 45:675-8, 2001.
15. SAS Institute Inc. SAS/STAT software changes and enhancements through release 8.2. Cary, NC: SAS Institute, Inc. 1999-2001.
16. SILVA, H. A. SILVEIRA, L. M.S. CORRÊA, P. B. F SOUSA, M.G T. A influência da fase pré-analítica no controle de qualidade do diagnóstico colposcópico. *RBCA*, vol. 34 (3): 131-135, 2002.
17. SHIRATA, N. K. ; PEREIRA, S. M. M.; LONGATTO, F. A.; UTAGAWA, M. L. Celularidade dos esfregaços cervicovaginais: importância em programas de garantia de qualidade em citologia. *J Bras Ginec*, 108:63-6, 1998.
18. ZEFERINO, L. C.; CATHARINO, J. M. R.; ARAUJO, M. A. S.; SILVA, A. C. B.; VEDOATO, S. R. TMBASCIA, J. K. Desempenho das amostras do canal endocervical e do fundo de saco no diagnóstico da neoplasia do colo uterino. *Ver. Bras Ginec Obstet*, 22: 129-34, 2000.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Profa Dra Rita Goreti Amaral- amaral@farmacia@ufg.br

Fone: (62) 209-6044 ramal 302

Rua Lauro Jacques Qd 06 Lt 23, Apto 403, Bl 03, Setor Negrão de Lima, Goiânia- GO

CEP 74650-170

33º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 6º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

04 a 08 de junho de 2006

Local:

Estação Embratel Convention Center - Curitiba - PR

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

PRÊMIO CFF

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

- 1) O Prêmio Conselho Federal de Farmácia - CFF é promovido pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC, com o patrocínio do Conselho Federal de Farmácia;
- 2) O Prêmio será no valor de R\$ 5.000,00, além de diploma alusivo;
- 3) O Prêmio será entregue na solenidade programada pela SBAC nos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas - CBAC.

II - DOS OBJETIVOS

- O Prêmio Conselho Federal de Farmácia - CFF tem por objetivos;
- 1) Estimular o desenvolvimento de pesquisas de Farmacêuticos-bioquímicos na área de Citologia no País; e
 - 2) Premiar o melhor trabalho de Farmacêutico-bioquímico sobre Citologia inscrito e apresentado no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, com vistas a melhoria técnica do Laboratório Clínico.

III - DA PARTICIPAÇÃO

- 1) Poderão concorrer ao Prêmio, os trabalhos inscritos e apresentados no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas;
- 2) Para concorrer ao Prêmio, os autores Farmacêuticos-bioquímicos deverão remeter à Secretaria da SBAC, até 30 dias antes do Congresso, 05 (cinco) cópias em papel do trabalho original completo e uma cópia em disquete ou CD (linguagem Word for Windows), atendendo às normas de publicação da Revista Brasileira de Análises Clínicas, contendo: introdução (com objetivo definido do trabalho) material e métodos, resultados, discussão, conclusão, bibliografia, resumo em português, summary em inglês, palavras chaves (uniterms) e key words (uniterms).
- 3) Os trabalhos concorrentes deverão ser escritos em português e ser originais, ainda não publicados nem comprometidos para publicação em qualquer Revista Científica da Especialidade;
- 4) O trabalho premiado será obrigatoriamente publicado na íntegra, com exclusividade, na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 5) Os demais trabalhos selecionados pela Comissão Julgadora para concorrer ao Prêmio CFF, poderão ser publicados na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 6) O não atendimento aos itens 1 à 3 desqualifica o trabalho e/ou o recebimento do Prêmio.

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

- 1) A Comissão Julgadora será composta de pelo menos 05 (cinco) membros nomeados pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, sendo um o Presidente;
- 2) A composição da Comissão Julgadora será divulgada pela SBAC nos Programas oficiais dos CBAC;
- 3) A Comissão Julgadora selecionará os 03 (três) melhores trabalhos apresentados, outorgando a um deles o Prêmio CFF, e aos outros 02 (dois), será outorgado um diploma de Menção Honrosa;
- 4) A decisão da Comissão Julgadora é soberana e irrecorrível.

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

- 1) O Prêmio do CFF é indivisível e será conferido a apenas um trabalho, ficando a inteiro critério dos autores seu eventual rateio;
- 2) O Trabalho concorrente ao Prêmio CFF, obrigatoriamente, deve ser apresentado na sessão de Temas Livres por um dos autores regularmente inscrito no Congresso;
- 3) Caso a Comissão Julgadora dos Prêmios decidir não premiar nenhum dos trabalhos apresentados para concorrer ao prêmio em virtude de não atingir os objetivos de prêmios, o valor deste será revertido para pagamento dos anúncios da empresa promotora publicados na RBAC, no SBAC Jornal e divulgados no site da SBAC.
- 4) Os casos omissos serão resolvidos pela Diretoria da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, ouvida a Comissão Julgadora.

Rio de Janeiro, 30 de dezembro de 2004.

Dr. Ulisses Tuma
Presidente

Informações:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

Prêmio CFF

Rua Vicente Licínio, 95 • Tijuca • Rio de Janeiro • RJ • 20270-902

Avaliação do sistema staph-id para a identificação de *staphylococcus* isolados a partir de espécimes clínicos humanos

Evaluation of staph-id system for identification of staphylococcus from human clinical isolates

Carlos Henrique Pessoa de Menezes e Silva¹; Alessandro Pereira Lins² & Caroline Sathler Oliveira da Cruz³

RESUMO - Um sistema para a identificação de estafilococos baseado em critérios bioquímicos foi avaliado. O sistema (STAPH-ID) foi utilizado para identificar 256 cepas de estafilococos coagulase positivos e negativos isolados de vários sítios como agentes etiológicos primários de infecções clínicas, bem como a identificação de 10 cepas derivadas da *American Type Culture Collection*, comparado com o esquema proposto por Kloos e Schleifer. O aumento na importância dos estafilococos e sua resistência aos antibióticos foram a razão do presente estudo. Mais de 95% dos *Staphylococcus* isolados foram facilmente identificados ao nível de espécie baseado nos perfis de 7 provas bioquímicas incluídas no kit proposto. O sistema é fácil de usar, de fácil manuseio e gerou resultados altamente reprodutíveis e de baixo custo. O sistema STAPH-ID é uma alternativa viável para a identificação de estafilococos coagulase positivos e negativos isolados de espécimes clínicos humanos em laboratórios de microbiologia.

PALAVRAS-CHAVE - *Staphylococcus*, Identificação, Testes bioquímicos.

SUMMARY - A system for the identification of staphylococci based on the biochemical criteria was evaluated. The system (STAPH-ID) was used to identify 256 strains of coagulase-positive and coagulase-negative staphylococci isolated from various body sites as the primary etiological agent of clinical infection as well 10 American Type Culture Collection strains compared with Kloos and Schleifer scheme. The increasing importance of staphylococci and their resistance to antibiotics provided the rationale for such an investigation. Over 95% of the *Staphylococcus* isolates were easily identified as to their species on the basis of their reaction profile to 7 biochemical tests included in the kit. The system is simple to use, is easy to handle, gives highly reproducible results, and is inexpensive. STAPH-ID system is a suitable alternative for identification of human coagulase-positive and coagulase-negative *Staphylococcus* species in microbiological laboratories.

KEYWORDS - *Staphylococcus*, Identification, Biochemical tests.

INTRODUÇÃO

Os *Staphylococcus* são os patógenos mais frequentemente encontrados em infecções humanas, sendo *S. aureus* a espécie mais comumente isolada¹. Os *Staphylococcus* coagulase-negativos (SCN) foram anteriormente considerados não patogênicos ou somente parte da microbiota normal da pele humana. Entretanto, recentemente, eles tem sido implicados em uma enorme variedade de infecções tanto em hospedeiros imunodebilitados quanto em pessoas saudáveis^{1,5}. Tais infecções incluem as do trato urinário, endocardites bacterianas subagudas, bacteriemia após implantação de dispositivos cardíacos artificiais e outras infecções mono e polimicrobianas. Isso levou a aumentar o interesse na identificação ao nível de espécie dos SCN, particularmente por tais espécies apresentarem atualmente alta resistência aos antibióticos comumente utilizados na prática médica^{1,5,13}.

Kloos e Schleifer⁶ publicaram um esquema simplificado para a identificação de uma grande variedade de SCN e também de *S. aureus*. Este esquema foi, posteriormente, revisado por Kloos e Lambe¹² e também por Bannerman¹. Entretanto, tal esquema é baseado em testes que nem sempre são facilmente encontrados no mercado brasileiro, além de necessitarem de longos períodos de incubação, tornando-o de pouca aplicabilidade prática nos laboratórios de microbiologia que trabalham somente com amostras provenientes de infecções humanas. Este método consiste em uma série de testes bioquímicos como a utilização de xilose, arabi-

nose, sacarose, trealose, maltose, manitol, lactose, xilitol, ribose, frutose e manose, produção de hemolisina, redução do nitrato, urease, ornitina descarboxilase, crescimento em caldo tioglicolato em anaerobiose e resistência a novobiocina, além de períodos de incubação de até 72 horas a 35°C. No presente estudo propôs-se um novo sistema para a identificação de espécies de *Staphylococcus*, em 18 a 24 horas de incubação (denominado STAPH-ID), apresentando resultados confiáveis e comparáveis aos do método tradicional proposto por Kloos e Schleifer, além de apresentar baixo custo.

MATERIAL E MÉTODOS

Fonte das bactérias: Um total de 256 isolados clínicos de *Staphylococcus* foram testados. Duzentas cepas foram isoladas a partir de pacientes hospitalizados (Hospital Praia da Costa e Hospital Santa Mônica, Vila Velha-ES), dos quais 85 foram isolados de hemoculturas, 50 de infecções do trato urinário e 65 de outras infecções. Outras 56 cepas foram obtidas de pacientes não hospitalizados, encaminhados ao laboratório Marcos Daniel (Vitória/ES) para a realização de uroculturas pois se tratavam de pacientes com sinais e sintomas clínicos de infecção do trato urinário. A distribuição dos sítios de isolamento é mostrada na Tabela-1. Todas as cepas foram reisoladas em ágar tríptico de soja (TSA, Difco) suplementado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro. Todos os isolados foram testados quanto à produção de coagulase em lâmina e em tubo com plasma

Recebido em 27/04/2005

Aprovado em

¹Farmacêutico-Bioquímico- Microbiologista, Marcos Daniel Laboratório (Vitória-ES);

²Farmacêutico-Bioquímico- Microbiologista, Laboratório Medical Lab (Domingos Martins-ES);

³Farmacêutica-Bioquímica-Microbiologista, Centro Tecnológico de Análises (Vila Velha-ES)

citrado de coelho, coloração de Gram e produção de ácido a partir do glicerol na presença de eritromicina (0,4µg/mL) como descrito por Kloos e Schleifer.

Controle da qualidade: Para o controle da qualidade dos testes de identificação foram utilizadas as seguintes cepas derivadas da ATCC (*American Type Culture Collection*): *S.aureus* ATCC 25923; *S.epidermidis* ATCC 14990; *S.haemolyticus* ATCC 29970; *S.hominis* ATCC 27844; *S.sciuri* ATCC 29062; *S.cohnii* ATCC 29974; *S.intermedius* ATCC 29663; *S.warneri* ATCC 27836; *S.xylosus* ATCC 29971 e *S.saprophyticus* ATCC 15305.

Identificação das espécies: Colônias isoladas de cada placa de ágar TSA-sangue foram escolhidas para uso nos testes de identificação. Porções de tamanho semelhante foram inoculadas em cada tubo da série bioquímica proposta, sempre com especial atenção na esterilização da agulha bacteriológica utilizada antes da inoculação do próximo tubo para não haver carreamento de substratos de um tubo para outro. Os tubos foram então incubados por 24 horas a 35°C antes da leitura e interpretação dos resultados. As reações bioquímicas testadas incluíram: fermentação de trealose, manose, lactose e manitol, redução do nitrato a nitrito, arginina desidrolase e urease. Os testes foram produzidos em tubos de poliestireno estéril com tampa de polipropileno. A prova de arginina desidrolase foi coberta com 500µL de óleo mineral estéril antes da incubação. A leitura da prova de redução do nitrato foi realizada após a adição dos reagentes específicos (ácido sulfanílico 0,8% em ácido acético 5N e alfa-naftilamina 0,6% em ácido acético 5N).

Sistema de identificação convencional: Todos os isolados foram testados pelo método de identificação de *Staphylococcus* proposto por Kloos e Schleifer. Para o propósito de avaliação, os resultados do método convencional foram considerados corretos e aceitáveis.

RESULTADOS

A interpretação das várias provas bioquímicas ocorreu após 24 horas de incubação. Os resultados obtidos com o STAPH-ID para a identificação de 256 cepas pertencentes a 11 espécies diferentes de *Staphylococcus* são mostrados na Tabela-2. O novo sistema proposto obteve concordância na identificação ao nível de espécie com o sistema de Kloos e Schleifer em 238 das 256 (93,1%) cepas testadas. Dentre as 238 cepas corretamente identificadas, o sistema STAPH-ID obteve boa correlação com o método tradicional (≥90%) para a maioria das espécies, tais como *S.epidermidis* (40 de 42 cepas testadas), *S.haemolyticus* (16 de 17), *S.saprophyticus* (34 de 35), *S.hominis* (15 de 17), *S.simulans* (12 de 13).

A espécie com maior frequência de identificações incorretas pelo STAPH-ID foi *S.warneri*. Cinco cepas foram identificadas incorretamente como sendo *S.haemolyticus*. Estas cepas foram assim identificadas devido a resultados falso-negativos para o teste de urease. Após a reformulação da prova de urease, diminuindo a quantidade de fosfato de potássio de 2,0g/L para 0,8g/L, as cepas foram retestadas e identificadas corretamente pelo STAPH-ID como *S.warneri*. O sistema STAPH-ID identificou corretamente 93,1% dos SCN. A porcentagem de identificação foi excelente (96,1%) para as duas espécies de SCN mais comuns (*S.epidermidis* e *S.saprophyticus*) e muito boa (> 90%) para algumas espécies de SCN menos comumente isolados, tais como *S.haemolyticus* e *S.simulans*. Além disso, o sistema STAPH-ID identificou corretamente todas as cepas testa-

das de *S.aureus*, *S.cohnii*, *S.capitis*, *S.sciuri* e *S.xylosus*. Quando a identificação ao nível de espécie foi realizada com as cepas ATCC, o sistema STAPH-ID mostrou 95% de concordância com o método convencional. Não houve concordância total pelo mesmo motivo exposto anteriormente para o teste de urease e a cepa-controle de *S.warneri*. Após a reformulação da prova, a reprodutibilidade dos testes com as cepas do controle de qualidade foi de 100%.

Tabela I
Identificação das 256 cepas de *Staphylococcus* a partir de vários materiais clínicos

Microrganismo	Nº de isolados	Nº de isolados a partir de:		
		Hemoculturas	Uroculturas	Culturas de outros materiais clínicos
<i>S.aureus</i>	81	52	2	27
<i>S.epidermidis</i>	108	60	12	36
<i>S.saprophyticus</i>	44	8	31	5
<i>S.haemolyticus</i>	10	8	0	2
<i>S.simulans</i>	4	2	0	2
<i>S.hominis</i>	2	0	2	0
<i>S.capitis</i>	8	2	0	6
<i>S.cohnii</i>	4	2	0	2
<i>S.warneri</i>	4	2	0	2
<i>S.xylosus</i>	16	8	2	6

Tabela II
Identificações ao nível de espécie utilizando o sistema STAPH-ID

Espécie	Nº de isolados testados	Nº (%) de cepas identificadas corretamente
<i>S.aureus</i>	81	81 (100)
<i>S.epidermidis</i>	42	40 (95,2)
<i>S.saprophyticus</i>	35	34 (97,1)
<i>S.warneri</i>	23	18 (78,2)
<i>S.hominis</i>	17	15 (88,2)
<i>S.haemolyticus</i>	17	16 (94,0)
<i>S.simulans</i>	13	12 (92,3)
<i>S.capitis</i>	12	12 (100)
<i>S.cohnii</i>	8	8 (100)
<i>S.sciuri</i>	5	5 (100)
<i>S.xylosus</i>	3	3 (100)

DISCUSSÃO

Este estudo mostrou que a maioria dos isolados clinicamente importantes de *Staphylococcus* podem ser identificados ao nível de espécie dentro de 24 horas de incubação usando o sistema proposto STAPH-ID. Nossos resultados demonstraram que o STAPH-ID produziu um bom nível de acurácia (≥ 90%) nas identificações de *Staphylococcus* comumente isolados de espécimes clínicos humanos e também para aqueles isolados menos frequentemente em comparação com o método convencional.

Das 244 cepas de *Staphylococcus* corretamente identificadas ao nível de espécie pelo STAPH-ID, houve a necessidade de incubação por um período adicional de 24 horas em 2,8% destas [*S.epidermidis* (2), *S.saprophyticus* (1), *S.hominis* (2), *S.haemolyticus* (1) e *S.simulans* (1)].

Os resultados obtidos estão amplamente em concordância com os de outros autores^{3,5,7,10} que também utilizaram testes bioquímicos tradicionais para as identificações de espécies de *Staphylococcus*. Papapetropoulos *et al.*⁹ examinaram 120 cepas de SCN e classificaram-nas como *S.epidermidis* (76 de 118 cepas testadas), *S.saprophyticus* (10 de 118), *S.hominis* (10 de 118) e as outras espécies reconhecidas pelo método de Kloos e Schleifer foram identificadas com menor frequência.

Em poucos casos, alguns dos resultados de certos testes bioquímicos (como fermentação do manitol e produção de urease) foram diferentes daqueles obtidos pelo sistema convencional. Estas discrepâncias podem ser devido, em parte, a diferenças nos períodos de incubação, concen-

tração dos substratos, sensibilidade dos indicadores ou todos esses fatores juntos.

É bem aceito o fato de que a maioria das espécies de *Staphylococcus* devem ser incubada em meios como o ágar sangue por pelo menos 48 horas antes que o isolado primário seja utilizado para a determinação da espécie^{2,4}. Em particular, a identificação dos SCN ao nível de espécie e a diferenciação entre estas espécies são facilitados por testes simples de interpretação das características coloniais em ágar sangue após 3 dias de incubação a 35°C seguido de 2 dias de incubação em temperatura ambiente^{4,11,14}. Infelizmente, a prática da microbiologia médica humana impede os microbiologistas de estenderem desta forma o tempo para a identificação destas espécies. Portanto, a necessidade de testes rápidos, confiáveis e de baixo custo torna-se vital para o correto prosseguimento da conduta clínica com base no diagnóstico laboratorial.

Por muito tempo, apesar do crescimento da caracterização das infecções por *Staphylococcus*, particularmente SCN, estes microrganismos não foram corretamente identificados pelos laboratórios clínicos⁶. Na maioria dos laboratórios a identificação dos estafilococos ainda é baseada somente nos aspectos morfológicos das colônias desenvolvidas em ágar sangue, coloração de Gram e provas de catalase e coagulase, as quais permitem somente a classificação dos estafilococos em *S.aureus* ou não *S.aureus*, sendo esses últimos classificados simplesmente como SCN^{1,13}. Com o aumento da atenção à saúde em nosso país, hoje os microbiologistas clínicos estão também mais interessados em reportar o mais rápido possível e com o menor custo os resultados dos exames microbiológicos aos médicos assistentes, fazendo com que haja grande procura por métodos rápidos, confiáveis e de baixo custo. Infelizmente as opções encontradas no Brasil ainda não contemplam estes três parâmetros em conjunto.

Do ponto de vista prático, o sistema STAPH-ID proposto neste estudo foi simples de usar, de fácil manuseio, gerando resultados altamente reprodutíveis, com baixo custo por determinação e respeitando as normas de biossegurança, uma vez que os tubos utilizados são plásticos e após a autoclavagem foram descartados convenientemente no lixo comum do laboratório, sendo indicado para a rotina laboratorial microbiológica de laboratórios que isolam *Staphylococcus* a partir de espécimes clínicos humanos.

REFERÊNCIAS

1. BANNERMAN, T.L. *Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci that grow aerobically*. In: Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Tenover, M.C., Tenover, R.H. (eds), *Manual of Clinical Microbiology*, American Society for Microbiology, Washington, D.C., 2003.
2. CHRISTENSEN, G.D.; PARISI, J.T. et al. Characterization of clinically significant strains of coagulase-negative staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* 18:258-269, 1983.
3. ENG, R.H.K.; WANG, C. et al. Species identification of coagulase-negative staphylococcal isolates from blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* 15:439-442, 1982.
4. FIDALGO, S.F.; VAZQUES, M. et al. Bacteremia due to *Staphylococcus epidermidis*: microbiologic, epidemiologic, clinical and prognostic features. *Rev. Infect. Dis.* 12:520-528, 1990.
5. GEMMELL, C.G. New developments among coagulase-negative staphylococci. *Clin. Microbiol. Newsl.* 2:5-7, 1980.
6. KLOOS, W.E.; LAMBE, D.W. *Staphylococcus*, p.222-237. In A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Hermann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 5th ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1991.
7. KLOOS, W.E.; SCHLEIFER, K.H. Isolation and characterization of staphylococci from human skin. II. Description of four new species: *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis*, and *Staphylococcus simulans*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 25:62-79, 1975.
8. KLOOS, W.E.; SCHLEIFER, K.H. Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. *J. Clin. Microbiol.* 1:82-88, 1975.
9. PAPAPETROPOULOS, M.; PAPPAS, A. et al. Distribution of coagulase-negative staphylococci in human infections. *J. Hosp. Infect.* 2:145-153, 1981.
10. SCHLEIFER, K.H.; HEISE, W.; MEYER, G.L. Desoxyribonucleic acid hybridization studies among micrococci. *FEMS Microbiol. Lett.* 6:33-36, 1979.
11. SCHLEIFER, K.H.; KLOOS, W.E. Isolation and characterization of staphylococci from human skin. I. Amended descriptions of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* and descriptions of three new species: *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus haemolyticus*, and *Staphylococcus xylosum*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 25:50-61, 1975.
12. SCHLEIFER, K.H.; KLOOS, W.E. A simple test system for the separation of staphylococci from micrococci. *J. Clin. Microbiol.* 1:337-338, 1975.
13. SCHUMACHER-PEDREAU, F. Clinical significance and laboratory diagnosis of coagulase-negative staphylococci. *Clin. Microbiol. Newsl.* 13:97-101, 1991.
14. SKULNICK, M.; PATEL, M.P.; LOW, D.E. Evaluation of five commercial systems for identification of coagulase-negative staphylococci to species level. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 8:1001-1003, 1989.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Carlos Henrique Silva

Rua Lúcio Bacelar, 16/803

CEP. 29101-030 - Vila Velha - ES

33º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 6º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

04 a 08 de junho de 2006

Local:

Estação Embratel Convention Center - Curitiba - PR

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

PRÊMIO SBAC

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

- 1) O Prêmio SBAC é promovido pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - SBAC;
- 2) O Prêmio será no valor correspondente a R\$ 5.000,00 (cinco mil reais), além de diploma alusivo;
- 3) O Prêmio será entregue na solenidade programada pela SBAC nos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas - CBAC.

II - DOS OBJETIVOS

O Prêmio SBAC tem por objetivos;

- 1) Estimular o desenvolvimento de pesquisas na área de Análises Clínicas no País; e
- 2) Premiar o melhor trabalho apresentado no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, com vistas a melhoria técnica do Laboratório Clínico.

III - DA PARTICIPAÇÃO

- 1) Poderão concorrer ao Prêmio, todos os trabalhos inscritos e apresentados no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas;
- 2) Para concorrer ao Prêmio, os autores deverão remeter à Secretaria da SBAC, até 30 dias antes do Congresso, 05 (cinco) cópias em papel do trabalho original completo e uma cópia em disquete ou CD (linguagem Word for Windows), atendendo às normas de publicação da Revista Brasileira de Análises Clínicas, contendo: introdução (com objetivo definido do trabalho) material e métodos, resultados, discussão, conclusão, bibliografia, resumo em português, summary em inglês, palavras chaves (unitermos) e key words (uniterms).
- 3) Os trabalhos concorrentes deverão ser escritos em português e ser originais, ainda não publicados nem comprometidos para publicação em qualquer Revista Científica da Especialidade;
- 4) O trabalho premiado será obrigatoriamente publicado, com exclusividade, na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 5) Os demais trabalhos selecionados pela Comissão Julgadora para concorrer ao Prêmio SBAC, poderão ser publicados na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 6) O não atendimento aos itens 1 à 3 desqualifica o trabalho e/ou o recebimento do Prêmio.

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

- 1) A Comissão Julgadora será composta de pelo menos 05 (cinco) membros nomeados pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, sendo um o Presidente;
- 2) A composição da Comissão Julgadora será divulgada pela SBAC nos Programas oficiais dos CBAC;
- 3) A Comissão Julgadora selecionará os 03 (três) melhores trabalhos apresentados, outorgando a um deles o Prêmio SBAC, e aos outros 02 (dois), será outorgado um diploma de Menção Honrosa;
- 4) A decisão da Comissão Julgadora é soberana e irrecorrível.

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

- 1) O Prêmio SBAC é indivisível e será conferido a apenas um trabalho, ficando a inteiro critério dos autores seu eventual rateio;
- 2) O Trabalho concorrente ao Prêmio SBAC obrigatoriamente, deve ser apresentado na Sessão de Temas Livres por um dos autores regularmente inscrito no Congresso;
- 3) Caso a Comissão Julgadora dos Prêmios decidir não premiar nenhum dos trabalhos apresentados para concorrer ao prêmio em virtude de não atingir os objetivos de prêmios, o valor deste será revertido para pagamento dos anúncios da empresa promotora publicados na RBAC, no SBAC Jornal e divulgados no site da SBAC.
- 4) Os casos omissos serão resolvidos pela Diretoria da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, ouvida a Comissão Julgadora.

Rio de Janeiro, 30 de dezembro de 2004.

Dr. Ulisses Tuma
Presidente

Informações:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio SBAC

Rua Vicente Licínio, 95 • Tijuca • Rio de Janeiro • RJ • 20270-902

Síndrome de Bernard-Soulier

Bernard-Soulier Syndrom

Daniela Espíndula de Quadros*

RESUMO - A síndrome de Bernard-Soulier (SBS) trata-se de uma rara enfermidade que se caracteriza por tempo de sangramento prolongado, presença de trombocitopenia e plaquetas gigantes. Clinicamente, os portadores sofrem de distúrbios hemorrágicos que vão de discretos a severos, como: epistaxes, menorrágia, melena, sangramento gengival, entre outros. Trata-se de uma doença de transmissão hereditária autossômica recessiva, com maior prevalência em filhos de pais consanguíneos. A nível molecular, sua causa predominante deve-se a diversas mutações, como a deleção de dinucleotídeos, alterando a leitura estrutural da região que decodifica a glicoproteína (GP), produzindo, assim, proteínas alteradas que normalmente teriam um papel especial na conformação e estabilidade da expressão do complexo GP IbIX-V, que é responsável pela eficácia funcional das plaquetas. Esta revisão de literatura tem como objetivo mostrar a importância do conhecimento dessa alteração plaquetária, esclarecer dúvidas sobre a SBS e apontar que a presença de plaquetas bizarras no esfregaço sanguíneo é o mais importante indício desta síndrome, o que diferencia a SBS de outros distúrbios de hemostasia, como a Púrpura Trombocitopênica Imunológica e a Doença de Von Willebrand, na rotina laboratorial.

PALAVRAS-CHAVE - Plaquetas, Síndrome de Bernard-Soulier, Tempo de Sangramento, Complexo GP IbIX-V.

SUMMARY - The Bernard-Soulier syndrome (BSS) is a rare bleeding disorder that is characterized by prolonged bloody time, thrombocytopenia presence and giant platelets. Clinically, the carriers suffer from hemorrhage disturbs, occurring from mild to severe ones, like epistaxis, menorrhagia, melena, gingival and cutaneous bleeding, besides others. It is related as a disease of recessive autosomal hereditary transmission, often occurring in people whose parents are close relatives. At molecular level, its predominant case is due to several mutations, like dinucleotide deletion, reading frameshift in the region encoding the glycoprotein, thus, producing modified proteins, which normally have a special role in the conformation and stability of GP IbIX-V complex expression, which is responsible for the functional efficacy of platelets. This literature review aims to show the importance of the knowledge of this platelets alteration, to elucidate doubts about the SBS and to point that the bizarre platelets presence in the blood distend is the most important sign of this syndrom, which distinguishes the SBS from other hemostasis disturb, like immune thrombocytopenia purple and Von Willebrand disease, in the laboratory routine.

KEYWORDS - Platelets, Bernard-Soulier Syndrome, Bloody Time, GP IbIX-V.

INTRODUÇÃO

A síndrome de Bernard-Soulier (SBS) é uma rara desordem hemorrágica hereditária transmitida de maneira autossômica recessiva, ocorrendo freqüentemente em filhos de pais consanguíneos. A herança autossômica dominante foi observada em apenas um relato.⁹

Nas populações da Europa, América do Norte e Japão, onde a síndrome é estudada mais intensamente, há uma prevalência de menos de 1 em 1.000.000. Não há dúvida de que muitos casos são subestimados por não serem diagnosticados ou não serem relatados.^{9,10}

Esta síndrome é caracterizada por plaquetas gigantes, morfológicamente anormais e há redução ou falta de agregação plaquetária induzida por ristocetina.¹¹ O complexo GP IbIX, que está na membrana plaquetária, tem sido mostrado deficiente ou defeituoso nas plaquetas dos pacientes com SBS. Foi descrito um defeito na ligação do fator de Von Willebrand com os receptores de membrana que são quatro produtos de genes distintos: GP Ib α , GP Ib β , GP IX e GP V.¹⁴

A Síndrome de Bernard-Soulier, assim como outras coagulopatias, é de difícil distinção apenas por suas manifestações clínicas, sendo necessário, além de recursos analíticos, também o conhecimento sobre as características patológicas dessa rara desordem. Este artigo tem por objetivo esclarecer dúvidas, apontar pontos diferenciais entre outras desordens de coagulação e mostrar que uma análise atenta das plaquetas é extremamente importante durante a análise de uma esfregaço sanguíneo.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

HISTÓRICO

Em 1948, Bernard e Soulier descreveram um jovem paciente do sexo masculino com severa desordem hemorrágica, caracterizada por tempo de sangramento prolongado, trombocitopenia e plaquetas extremamente grandes. Assim, desordens idênticas foram descritas em um grande número de pacientes, sempre transmitidas de maneira autossômica recessiva e, freqüentemente, ocorrendo em pessoas cujos pais são parentes próximos. Desde 1969 esta doença é conhecida como Síndrome de Bernard-Soulier.⁹

A desordem ocorre devido à adesão defeituosa das plaquetas na parede lesada de um vaso. Isto acontece por anormalidades quantitativas ou funcionais do receptor plaquetário para o fator de Von Willebrand, o complexo GP Ib-IX-V.¹

A primeira anormalidade molecular nas plaquetas dos pacientes com SBS foi percebida em 1969, por GRÖTTEM e SOLUM, que notaram uma mobilidade eletroforética reduzida das plaquetas, relacionada com uma diminuição da concentração de ácido salicílico na membrana. Posteriormente, notou-se o fracasso da agregação com ristocetina.

Em 1974, WEISS *et al.*, descobriram a falta de habilidade dessas plaquetas em aderir-se ao sub-endotélio de veias. Também, sugeriram a falta de um receptor para o fator de Von Willebrand na superfície plaquetária. Numerosas anormalidades fenotípicas foram descritas: anormalidade no conteúdo de fosfolípidos na membrana, anormalidade da atividade coagulante, alterações morfológicas de estrutura e tamanho.⁹

Recebido em 13/04/2004

Aprovado em

*Farmacêutica-Bioquímica especialista em Hematologia Laboratorial – Laboratório de Análises Clínicas do Posto Médico da Guarnição de Cascavel - 15º Batalhão Logístico.

A falta do receptor para Von Willebrand foi sugerida em 1975 por NURDEN e CAEN que demonstraram falta de um dos três maiores carboidratos da superfície da plaqueta, a glicoproteína I (GP I).

Mais tarde, em 1994, CLEMETSON *et al*, demonstraram a deficiência de 4 polipeptídeos: GP Ib α , GP Ib β , GP IX e GP V, que compõem o chamado complexo GP IbIX-V.⁹

ESTRUTURA E FUNÇÃO DO COMPLEXO GP IbIX-V

O complexo GP IbIX-V tem dois importantes papéis na função da plaqueta: intermedeia a adesão da plaqueta na parede de um vaso sanguíneo no local de uma injúria, prendendo o fator de Von Willebrand e facilitando a ação da trombina em baixas concentrações, ativando, assim, a plaqueta e permitindo que esta interação com o fator de Von Willebrand induza a ocorrência de agregação plaquetária⁹, e inicia a adesão das plaquetas nos lugares de injúria vascular. Como outros receptores de adesão, que ligam o complexo com o fator de Von Willebrand, este complexo também pode traduzir sinais ao citoplasma da plaqueta, promovendo uma cascata de eventos que leva a formação de um tampão hemostático plaquetário.⁹

O complexo GP IbIX-V tem um importante papel na reação de adesão da plaqueta e na formação de plaquetas normais, sendo responsável pela morfologia normal.⁵

A estrutura do complexo compreende 4 subunidades de polipeptídeos: GP Ib α , GP Ib β , GP IX e GP V. Cada uma dessas sub-unidades estão envolvidas em diversos processos, assim como, sinalização celular, adesão e desenvolvimento.⁹

A GP Ib α contém um local de ligação para o fator de Von Willebrand, liga-se a α -trombina na parte externa da cadeia e, também, dá lugar para a ligação da proteína 14.3.3 e com o citoesqueleto de actina no interior da plaquetas. O GP Ib α é ligada a GP Ib β , e existe em quantidade de 1:1 com esta proteína. Os outros componentes do oligômero, GP IX e GP V, são ligados de maneira não covalentes ao GP Ib α .¹¹ No citoplasma da plaqueta, o carboxi-terminal da GP Ib α associa-se com a actina e seus filamentos, assim o complexo representa um local de anexo principal entre a membrana e o citoesqueleto plaquetário sendo responsável pela forma das plaquetas e a estabilização da membrana. O seu rompimento pode explicar o aumento parcial do volume das plaquetas de pacientes com a SBS.¹²

GP Ib β é ligada por um dissulfeto extra-molecular ao GP Ib α imediatamente próximo à membrana plasmática plaquetária. A sequência citoplasmática de 34 aminoácidos contém uma proteína quinase A de fosforilação, localizada na Ser 166, que regula o citoesqueleto plaquetário, reorganizando-o em resposta a uma estimulação.^{9,11}

GP IX tem também uma única repetição de leucina principal e permanece associado com o GP Ib α .^{3,9}

GP V tem 15 repetições de leucina e uma pequena cauda citoplasmática de 16 aminoácidos. É considerado um vínculo adjacente de interação do complexo GP Ib-IX com GP Ib α . A GP V liga-se somente com a GP Ib α e está em quantidade reduzida em relação as outras glicoproteínas.^{9,10}

Os papéis funcionais de GP Ib β e GP IX no complexo não estão claros, embora "in vitro" há sugestões que ambas proteínas agem como complexo específico de suporte, protegendo a GP Ib α da degradação lisossômica enquanto é transportada para a membrana da plaqueta. No entanto, análises de citometria de fluxo mostraram uma expressão mínima residual de GP Ib α na superfície das plaquetas de SBS, indicando que há uma capacidade residual para esta proteína ser expressada sozinha na superfície da célula,

porém ela não se mantém na superfície e fica solta no citoplasma, prejudicando a formação do complexo GP Ib α -IX e sua expressão na superfície plaquetária. GP V tem papel na ligação de alta afinidade da trombina nas plaquetas, mas não parece ser essencial para a expressão de superfície de um complexo funcional.^{7,11} Estudos feitos em microscópio eletrônico e citometria de fluxo mostraram que plaquetas deficientes de GP V eram normais, tanto em tamanho como em estrutura e tinham agregação normal, neste estudo mostrou-se que GP V não é necessário para expressão ou função de GP Ib α , portanto é improvável que a deficiência de GP V seja uma causa da SBS⁶. Estudos recentes mostraram que a união coordenada de GP Ib α , GP Ib β e GP IX são necessários para a expressão de superfície eficiente do complexo funcional. Mutações em qualquer lugar de uma destas três subunidades podem conduzir a uma expressão prejudicada do complexo GP IbIX-V. Em contraste GP V faz um papel secundário, e pelo menos "in vitro" ele não é necessário para expressão eficiente do complexo GP Ib-IX.⁸

É desconhecida a maneira correta sobre o relacionamento destes polipeptídeos. Sabe-se que o GP Ib β é capaz de ligar-se independentemente aos polipeptídeos GP Ib α e GP IX, assim, os dois são expressos na superfície plaquetária. Sabe-se também que a GP Ib α , GP Ib β e GP IX estão presentes em quantidade equimolar na superfície plaquetária e GP V está presente somente com a metade do número das outras 3 glicoproteínas, numa proporção de 2:2:1, respectivamente GP Ib α : GP Ib β : GP IX: GP V.^{9,10,11}

O complexo de GP IbIX-V liga-se com o fator de Von Willebrand somente através do GP Ib α . Para que haja ligação do fator de Von Willebrand na superfície plaquetária, é necessário que haja a imobilização deste fator sub-entotelial e a presença de elevadas forças de ligação. Este processo ativa a plaqueta e conduz a agregação. Uma ótima interação entre o fator de Von Willebrand-GPIb α é crucial para a adesão plaquetária.¹² "In vitro", as substâncias que poderão causar esta ligação são a ristocetina e a botrocetina (proteína retirada do veneno de uma cobra sul-americana, a *Bothrops jararaca*) que agem através de mecanismos diferentes.¹⁰

A função do complexo GP IbIX-V na mediação da ativação da trombina nas plaquetas é controversa, mas é clara a necessidade de baixas concentrações de trombina para a ativação plaquetária.¹⁰ A ação da trombina envolve sinais de transmembrana nos receptores da trombina, facilitando a resposta das plaquetas em baixas concentrações de trombina. Uma resposta deficiente para a trombina, sem dúvida, contribui para um sangramento aumentado de pacientes com SBS.⁹

SÍNTESE DO COMPLEXO

Baseado em estudos de plaquetas de pacientes com SBS com diferentes mutações, mostrou-se que a manutenção da estequiometria depende da estabilidade do complexo de glicoproteínas. Nenhum dos polipeptídeos (GP Ib α , GP Ib β e GP IX) é expresso sozinho de maneira eficiente na superfície da célula, a menos que a expressão na célula fique aumentada por manipulações tais como amplificação de gene. Combinações de dois polipeptídeos são mais eficientes em alcançar a superfície da célula do que os polipeptídeos sozinhos. Estudos com camundongos sem GP V mostraram expressão de níveis normais do complexo GP IbIX e não tiveram SBS.^{9,11}

As mutações mais recentes aparentemente causam desordem pelo decréscimo da expressão de superfície de GP

Ib α . Em vários casos descritos, quantidades residuais dos polipeptídeos que não foram afetados são ainda encontrados nas plaquetas, sendo que GP Ib α , GP Ib β são capazes de interagirem na falta de outros polipeptídeos. Os polipeptídeos do complexo são todos associados logo após a sua síntese e ocorre a inserção na membrana do retículo endoplasmático. Antes que o complexo alcance a superfície da célula, seus polipeptídeos são submetidos a um número de modificações pós-translacionais, incluindo a adição de carboidratos ligados ao nitrogênio e ao oxigênio, modificando as cisteínas intracitoplasmáticas de GP Ib β e GP IX pela oscilação com ácidos gordurosos e sulfatação de tirosinas na ligação de GP Ib α . Estas modificações são todas prováveis para influenciar a função do complexo. Provavelmente, as mutações que derivam das modificações pós-translacionais "in vivo" podem resultar em variantes da SBS.⁹

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS, DIAGNÓSTICO E TERAPIA

Manifestações clínicas: A SBS é caracterizada clinicamente por um prolongado tempo de sangramento, plaquetas morfológicamente aumentadas e em quantidade diminuída.¹¹ O diâmetro das plaquetas normais é de $3,3 \pm 1,5 \mu\text{m}$ e as plaquetas da SBS tem o diâmetro de $5,3 \pm 1,5 \mu\text{m}$. Manifestações clínicas comuns incluem episódios frequentes de epistaxes, sangramento gengival e cutâneo, hemorragias associadas com o traumas, embora haja uma variação considerável entre os indivíduos portadores da síndrome. A contagem de plaquetas pode variar de muito baixa (inferior a 30.000/ μl) a valores normais (aproximadamente 200.000/ μl) e esta contagem pode variar consideravelmente durante os anos de vida. Às vezes o tempo de sangramento pode oscilar de normal (de 5 a 10 minutos) até mais de 20 minutos. Sangramentos associados com a SBS são geralmente evidentes já em crianças novas, entretanto, a severidade de sintomas podem progressivamente piorar ou tornar-se brandas durante a puberdade e a vida adulta. Episódios de sangramentos severos são associados com procedimentos cirúrgicos, extrações dentárias, menstruação, gravidez ou acidentes. Equimoses sem trauma significativo são relativamente comuns, assim como, episódios de epistaxes espontâneas e sangramento gengival e gastrointestinal, com possibilidade de melena. Menorragia pode ser controlada com contraceptivos orais. Gravidez em pacientes com SBS pode apresentar complicações de severidade variável. Sangramentos associados com o parto são geralmente apoiados por transfusões de sangue e/ou plaquetas e pode necessitar histerectomia para controlar o sangramento. Múltiplos nascimentos são incomuns em portadoras de Bernard-Soulier.⁹

Diagnóstico: As desordens plaquetárias de adesão, ativação, secreção e agregação, ou as várias coagulopatias são frequentemente não distinguíveis em suas manifestações clínicas isoladas, apresentando um desafio para o diagnóstico, requerendo testes especializados ou análises bioquímicas. Inicialmente, para o diagnóstico da SBS, deve-se fazer a contagem de células sanguíneas, para a verificação de trombocitopenia e anormalidades morfológicas de plaquetas. Experimentalmente, pode ser diferenciada das outras desordens de sangramento, pela análise funcional da suspensão de plaquetas agitada em um agregômetro. A característica anormal na SBS é um defeito isolado de agregação de ristocitina, diferentemente do defeito da doença de Von Willebrand, esta anomalia não é corrigida pela adição de uma plasma normal.¹¹ A confirmação bio-

química é feita através de citometria de fluxo, que utiliza um marcador de superfície de plaquetas lavadas seguida por uma eletroforese em gel de dodecil de sódio-sulfato-poliacrilamida e a autoradiografia, ou imunoblotting de plaquetas lisadas com anticorpos específicos de glicoproteínas plaquetárias, estabelecendo um genótipo anormal, permitindo uma definição precisa da anormalidade.⁹

Terapia: A terapêutica indica medidas gerais de suporte e tratamento específico de episódios de sangramento. Medidas gerais incluem educação dos pacientes sobre a origem de seus sangramentos e a importância de evitar traumas, também o aconselhamento ao não uso de medicações antiplaquetárias, tais como aspirina. Higiene dental adequada deveria ser mantida para prevenir doenças gengivais e minimizar procedimentos odontológicos. A deficiência de ferro pode resultar em sangramentos gengival crônico ou menorragia. Em alguns casos a esplenectomia tem aparentemente sido benéfica em caso de trombocitopenia moderada e severa, com melhora dos sintomas clínicos, embora este tratamento deva ser evitado por causa do alto risco de hemorragia pós-cirúrgica. Controle de episódios de sangramento ou profilaxia para prevenção de sangramentos durante os procedimentos cirúrgicos geralmente requer transfusões de sangue e/ou plaquetas, apesar do risco destes pacientes desenvolverem alo-anticorpos anti-plaquetas e anti-hemácias. Anestésicos como alotano ou debucaína, que comprometem reação plaquetária, devem ser evitados. O uso de drogas anti-fibrinolíticas como ácido δ -episilon-aminocapróico ou ácido tranexâmico pode ou não ser benéfico.⁹

Devido à relativa facilidade com a qual as lesões moleculares podem ser determinadas e dada à simplicidade dos genes afetados, a SBS parece uma doença candidata ideal para a terapia genética. Provavelmente, envolvendo transdução da célula tronco hematopoiética com um trabalho de cópia do gene defeituoso, sob o controle de seu provedor específico.⁹

DISCUSSÃO

Esta revisão bibliográfica mostrou que a SBS é uma desordem hemorrágica que manifesta-se clinicamente desde a infância e que somente pela sintomatologia clínica não é possível obter um diagnóstico conclusivo.¹¹ Mas, com auxílio de características patológicas, obtidas através exames laboratoriais, traça-se uma linha de estudo que levará à SBS. Evidencia-se, então, a importância da leitura dos esfregaços de sangue em um hemograma, pois a SBS caracteriza-se, principalmente, por alterações plaquetárias, pois apresentam-se em quantidade diminuída, tamanho aumentado e formas bizarras.^{9,11}

Para viabilizar o diagnóstico desse distúrbio, outras provas complementares são necessárias (a confirmação bioquímica é feita através de citometria de fluxo, autoradiografia ou imunoblotting de plaquetas lisadas usando anticorpos específicos de glicoproteínas plaquetárias, que irá estabelecer um genótipo anormal),⁹ mas a observação das características morfológicas é de grande valor diagnóstico.

Uma vez que a SBS é causada por um defeito genético, existem grandes possibilidades de uma futura cura intermediada pelo advento da terapia genética, que irá se tornar uma realidade em um futuro próximo.⁹

Devido a poucas informações existentes sobre esta síndrome, o conhecimento aqui revisado poderá vir a auxiliar futuros estudos acadêmicos e, também, sanar dúvidas e dificuldades em interpretações clínicas, que possam surgir du-

rante a análise laboratorial.

CONCLUSÃO

Através da literatura analisada podemos concluir que:

- A Síndrome de Bernard-Soulier é transmitida hereditariamente de maneira autossômica recessiva, sendo muito rara, com maior prevalência em locais onde casamentos consanguíneos é culturalmente comum.

- A causa da SBS pode ser por deficiência de GP Ib α , GP Ib β e GP IX, fazendo com que o complexo GP IbIX-V tenha defeito funcionais. Foi demonstrado que a ausência da GP V não interfere na função do complexo GP IbIX-V^{7,11}. Alterações nas repetições de leucina podem causar uma dificuldade na ligação com o fator de Von Willebrand, podendo assim causar esta desordem.

- A SBS pode ser confundida com a doença de Von Willebrand e a Púrpura Trombocitopênica Imunológica por suas características clínicas. Estas desordens podem ser diferenciadas, principalmente, pela falta de agregação com a ristocitina e plaquetas em quantidade diminuída, com o tamanho aumentado e morfologia bizarra. Pacientes com SBS apresentam tempo de sangramento aumentado, formação de freqüentes epistaxes e sangramentos.

- Para diagnosticar a SBS são importantes as características de quantidade e morfologia das plaquetas, assim como, os exames complementares de agregação de ristocitina, citometria de fluxo, imunoblotting de plaquetas lisadas usando anticorpos específicos de glicoproteínas plaquetárias.

REFERÊNCIAS

1. Afshar-Kharghan, V.; López, J.A. Bernard-Soulier syndrome caused by a dinucleotide deletion and reading frameshift in the region encoding the glycoprotein Ib- transmembrane domain. *Blood*, 90(7): 2634-2643, 1997.
2. Clemetson, J.M.; Kyrle, P.A.; Brenner, B.; Clemetson, K.J. Variant Bernard-Soulier syndrome associated with a homozygous mutation in the leucine-rich domain of glycoprotein IX. *Blood*, 84: 1124, 1994.
3. Donnér, M.; Karpman, D.; Kristoffersson, U.M.C.; Winqvist, E.U.; Holmberg, L. Recurrent mutation Asn45->Ser of glycoprotein IX in Bernard-Soulier syndrome. *British Journal of Haematology*, 57(2):178-179, 1996.

4. Grøttum, K.A.; Solum, N.O. Congenital thrombocytopenis with giant platelets: a defect in the platelet membrane. *British Journal of Haematology*, 16:277, 1969.
5. Holmberg, L.; Karpman, D.; Nilsson, I.; Olofsson, T. Bernard-Soulier syndrome Karlstad: Try 498 [arrow right] stop mutation resulting in a truncated glycoprotein Ib- that contains part of the transmembranous domain. *British Journal of Haematology*, 98(1):57-63, 1997.
6. Kahn, M.L.; Diacovo, T.G.; Bainton, D.F.; Lanza, F.; Trejo, J.; Coughlin, S.R. Glycoprotein V - Deficient platelets have undiminished thrombin responsiveness and do not exhibit a Bernard-Soulier phenotype. *Blood*, 95(12):4112-4121, 1999.
7. Kenny, D.; Morateck, P.U.M.; Brânquia, J.C.; Montgomery, R.R. The critical interaction of glycoprotein Ib, with GP IX a genetic cause of Bernard-Soulier syndrome. *Blood*, 93(9):2968-2975, 1999.
8. Kunishima, S.; Tomiyama, Y.; Honda, S.; Kurata, Y.; Kamiya, T.; Ozawa, K.; Saito, H. Cys97->Tyr mutation in the glycoprotein IX gene associated with Bernard-Soulier syndrome. *British Journal of Haematology*, 107(3-1):539-545, 1999.
9. López, J.A.; Andrews, R.K.; Afshar-kharghan, V.; Berndt, M.C. Bernard-Soulier syndrome. *Blood*, 91(12):4397-4418, 1998.
10. López, J.A.; Dong, J.F. Structure and function of the glycoprotein Ib-IX-V complex. *Hemostasis and Thrombosis*, 4: 323-329, 1997.
11. Moran, N.; Morateck, P.A.; Deering, A.; Ryan, M.; Montgomery, R.R.; Fitzgerald, D.J.; Kenny, D. Surface expression of glycoprotein Ib- is dependent on glycoprotein Ib.; evidence from a novel mutation causing Bernard-Soulier syndrome. *Blood*, 15(2):532-538, 2000.
12. Noris, P.; Simsek, S.; Stibbe, J.; Von dem Borne, A.E.G.Kr. A phenylalanine-55 to serine amino-acid substitution in the human glycoprotein IX leucine-rich repeat is associated with Bernard-Soulier syndrome. *British Journal of Haematology*, 97(2):312-320, 1997.
13. Nurden, A.T.; Caen, J.P. Specific roles for platelet surface glycoprotein in platelet function. *Nature*, 255:720, 1975.
14. Wright, S.D.; Michaelides, K.; Johnson, D.J.D.; West, N.C.; Tuddenham E.G.D. Double heterozygosity for mutations in the platelet glycoprotein IX gene in three siblings with Bernard-Soulier syndrome. *Blood*, 81(9):2339-2347, 1993.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Drª. Daniela Espínola de Quadros
Rua Carlos de Carvalho, 4016/42
CEP. 85812-080 - Cascavel - PR

33º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 6º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

04 a 08 de junho de 2006

Local:

Estação Embratel Convention Center - Curitiba - PR

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Toxoplasmose: perfil sorológico de mulheres em idade fértil e gestantes

Toxoplasmosis: serological profile of childbearing age and pregnant women

Luiza Detanico & Rita Maria Callegari Basso

RESUMO - Com o objetivo de determinar o perfil sorológico de mulheres em idade fértil e gestantes atendidas em um laboratório do município de Caxias do Sul (RS), Brasil, foi realizado um estudo retrospectivo dos resultados dos testes sorológicos efetuados no período de março a agosto de 2004. A prevalência de soropositividade no total de mulheres pesquisadas foi de 36,8% (IC 95%: 33,9 - 39,8) e entre aquelas que estavam grávidas de 31,0% (IC 95%: 26,8 - 35,5). Houve associação estatisticamente significativa entre a soroprevalência e a idade das mulheres estudadas ($p < 0,001$), com maior prevalência na faixa dos 37 aos 49 anos (51,7%). Os resultados reafirmam a importância de testes sorológicos de rotina para a prevenção da toxoplasmose congênita.

PALAVRAS-CHAVE - toxoplasmose, soroprevalência, triagem.

SUMMARY - In order to evaluate the serological profile for toxoplasmosis of childbearing age and pregnant women attended at a private laboratory in Caxias do Sul (RS), Brazil, it was carried out a retrospective study of the serological results performed from march to august 2004. The prevalence of soropositivity for toxoplasmosis in all women studies was 36,8% (IC 95%: 33,9 - 39,8) and for the pregnant women was 31,0% (IC 95%: 26,8 - 35,5). A relation between the seroprevalence and the women's age was observed ($p < 0,001$), the seroprevalence was higher among women aged 37-49 years (51,7%). The results reinforce the importance of the serological routine tests to prevent the congenital toxoplasmosis.

KEYWORDS - toxoplasmosis, seroprevalence, screening

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose que tem como agente etiológico o protozoário *Toxoplasma gondii*, parasito intracelular obrigatório.²⁴ A infecção é muito freqüente em várias espécies de mamíferos e aves. O gato e outros felídeos são os únicos hospedeiros nos quais o *T. gondii* pode realizar todo seu ciclo de vida, fase assexuada e fase sexuada. O homem e os outros animais são os hospedeiros intermediários, onde o parasita realiza apenas a fase assexuada de seu ciclo.²¹ O contágio pode ocorrer devido ao consumo de água e comida contaminadas com oocistos, ingestão de carne crua ou mal-cozida contaminada com cistos, transfusão de sangue, transplante de órgãos e por via transplacentária.^{5,7} A doença ocorre, geralmente, sob a forma crônica assintomática, sendo que, o imunocomprometimento do paciente pode levar à formas graves da infecção. A toxoplasmose congênita é particularmente grave e geralmente fatal.²⁴

Para que a transmissão congênita ocorra, é necessário que a mãe esteja na fase aguda da doença ou tenha havido uma reagudização devido a imunodepressão da gestante (mulheres cronicamente infectadas).²¹ Em Minas Gerais, constatou-se uma incidência de toxoplasmose congênita de 0,5%²⁵ e no Rio Grande do Sul de 8/10.000 nascidos vivos.¹⁹ Os maiores fatores de risco para toxoplasmose em mulheres grávidas, segundo um estudo europeu, foram atribuídos ao consumo de carnes cruas (30%) ou mal cozidas (60%) e ao contato com o solo (6% a 17%).⁴

O curso da doença depende da idade da gestação em que se deu a infecção. Em uma pesquisa realizada na Itália, o risco de infecção sintomática foi de 10,4% dos infectados no segundo trimestre da gestação e de 8,7% no terceiro trimestre.¹⁸ As gestantes na fase aguda (ou reagudização) da doença podem abortar, desenvolver partos precoces ou a termo, gerar crianças saudáveis ou apresentando anomalias leves à graves. A doença geralmente provoca sintomas variados, mas comumente enquadrados dentro da síndrome ou

tétrade de Sabin, assim caracterizada: coriorretinite (90% dos casos), calcificações cerebrais (69%), retardo psicomotor (60%) e micro ou macroencefalia (50% dos casos).²¹ Geralmente os casos de toxoplasmose congênita apresentam evolução subaguda ou crônica, regredindo as alterações viscerais e permanecendo as neuroculares.²⁴ Dos 47 casos de toxoplasmose congênita relatados numa triagem neonatal realizada no Brasil, apenas oito (17%) tiveram manifestações clínicas: dois casos de calcificação intracraniana, quatro de coriorretinite, um caso de calcificação intracraniana e coriorretinite e um caso de hepatoesplenomegalia com linfadenopatia.²⁰

Os métodos sorológicos são os mais comumente usados para o diagnóstico da toxoplasmose. Para gestantes e mulheres em idade fértil, é de extrema importância que os marcadores sorológicos diferenciem infecção latente de recente. A triagem sorológica deve compreender a pesquisa de anticorpos IgG e IgM contra *Toxoplasma gondii* para que se possa distinguir entre os três perfis sorológicos possíveis da doença. O perfil I está presente na soroconversão recente e caracteriza-se pela presença de IgM e IgG de baixa avides. O perfil II ou de transição apresenta elevados níveis de IgG, com índices de avides crescente, e redução gradativa de IgM. Finalmente, o perfil III, característico da infecção crônica ou latente, apresenta apenas anticorpos IgG geralmente em baixos títulos e com elevada avides.⁵ Nos Estados Unidos encontrou-se um percentual de 15% de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* entre mulheres na faixa dos 15 aos 44 anos.¹³ No Brasil, em um estudo realizado no Paraná, 66% das mulheres testadas mostraram-se reagentes à toxoplasmose IgG, com 70% de soropositividade entre aquelas em idade fértil.¹⁰ Outro estudo, realizado em Recife, constatou uma prevalência de 51,6% de anticorpos IgG entre mulheres com 18 a 40 anos.³

A soropositividade para toxoplasmose em gestantes foi de 10,9% na Noruega,¹² 14% em Estocolmo,²² 20,3% na Finlândia¹⁴ e de 67,3% em Paris.¹¹ No Brasil, a soroprevalência entre grávidas foi de 67% no Paraná,²³ 51,6% em Minas

Recebido em 23/03/2004

Aprovado em 14/11/2005

Professora do Departamento de Ciência Biomédicas da Universidade de Caxias do Sul (UCS) - RS

Gerais,²⁵ 77,1% no Rio de Janeiro,¹⁶ 32,7% em São Paulo,³⁰ 74,5% no noroeste do Rio Grande do Sul²⁶ e 59,8% na cidade de Porto Alegre.²⁹

A gravidez de mulheres soronegativas para anticorpos anti-toxoplasmose é muitas vezes considerada sem risco de transmissão congênita, sem que haja o acompanhamento necessário. No entanto é fundamental que estas gestantes sejam submetidas a exames mensais e, caso ocorra a sor conversão, o tratamento deve ser iniciado imediatamente.²⁶ Estudos já comprovaram que a triagem desta infecção durante a gravidez é economicamente viável, mesmo em países com baixa incidência.¹⁴ Na França e na Áustria esta política foi empregada a partir da década de setenta e muitos resultados já foram comprovados. Na Áustria houve um decréscimo de 50-70 casos de toxoplasmose para 1 em cada 10.000 nascimentos.^{2,28}

A realização de testes sorológicos que permitam o diagnóstico da toxoplasmose em mulheres em idade fértil e durante o acompanhamento pré-natal, assume importância real para a prevenção da toxoplasmose congênita. O exame realizado em mulheres em idade fértil possui grande valia para uma posterior diferenciação entre infecção latente e recente durante uma futura gestação. Este estudo teve como objetivo estimar a prevalência de soropositividade para toxoplasmose em mulheres em idade fértil (15 aos 49 anos) e gestantes, atendidas em um laboratório particular do município de Caxias do Sul (RS).

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal retrospectivo dos testes sorológicos para o diagnóstico de toxoplasmose, realizados em mulheres entre 15 e 49 anos, atendidas em um laboratório de grande porte², localizado no município de Caxias do Sul (RS), no período de março a agosto de 2004. Foram considerados apenas os resultados obtidos no primeiro atendimento, sem levar em consideração testes realizados posteriormente. Foi observado o número de mulheres que se declaravam grávidas no momento da requisição dos exames.

Foram analisados os resultados obtidos em 1080 amostras de soro testadas para toxoplasmose-IgG e toxoplasmose IgM pelo método E.L.F.A (*Enzyme-Linked-Fluorescent-Assay*) com tecnologia BIOLAB-MÉRIEUX (Sistema Vidas®). Considerou-se IgG reagente quando a concentração foi superior a 8 UI/mL, e IgG não reagente quando a dosagem dos anticorpos foi inferior a 4 UI/mL. A dosagem de IgM foi considerada reagente quando superior a 0,65 e não reagente quando inferior a 0,55. Valores situados entre 4 e 8 UI/mL para IgG e entre 0,55 e 0,65 para IgM foram considerados inconclusivos (Manual do Fabricante – bioMérieux® – Vidas® Toxo IgG e Vidas® Toxo IgM. Maio, 2003). As mulheres testadas foram consideradas soropositivas para toxoplasmose quando apresentaram IgG reagente independente do achado de IgM reagente. Quando apresentaram IgG e IgM não reagente, foram consideradas suscetíveis à infecção. Neste estudo, quando as pacientes apresentaram IgG e IgM reagente, não foi possível diferenciar infecção aguda de crônica.

A soropositividade para toxoplasmose foi estimada através do cálculo da taxa de prevalência e respectivos intervalos de 95% de confiança. O teste do Qui-quadrado, com nível de significância de 0,05, foi utilizado para avaliar a relação

entre faixa etária e soropositividade. Os dados foram analisados com a utilização dos programas computadorizados SPSS 11.0 for Windows e PEPI for Windows.

RESULTADOS

Dos 1080 testes sorológicos pesquisados, 15 não foram considerados pois apresentaram resultados inconclusivos para toxoplasmose-IgG e ou toxoplasmose-IgM. Das 1065 amostras restantes, 458 pertenciam a mulheres que se declararam grávidas no momento da requisição dos exames.

A taxa de prevalência de soropositividade para toxoplasmose nas mulheres estudadas foi de 36,8% (IC 95%: 33,9 - 39,8). Quando se avaliou a distribuição desta prevalência nas diferentes faixas etárias, houve associação estatisticamente significativa entre a soropositividade e a idade das mulheres ($p < 0,001$), observando-se uma maior prevalência entre aquelas compreendidas na faixa dos 37 aos 49 anos (51,7%). As frequências de soropositividade e suscetibilidade, distribuídas segundo faixa etária, estão descritas na Tabela 1. A distribuição das mulheres pesquisadas quanto a idade e a soropositividade está representada na Tabela 2.

Tabela I

Frequências de soropositividade e suscetibilidade para toxoplasmose, segundo faixa etária, obtidas nas amostras das mulheres atendidas em um laboratório de Caxias do Sul, no período de março a agosto de 2004.

Faixa etária (anos)	Soropositividade				Total de amostras		Suscetibilidade	
	[IgG(+);IgM(-)]		[IgG(+);IgM(+)]		Soropositivas		[IgG(-); IgM(-)]	
	n°	%	n°	%	n°	%	n°	%
15-25	86	8,1	15	1,4	101	9,5	187	17,6
26-36	173	16,2	26	2,4	199	18,6	400	37,6
37-49	74	7,0	18	1,7	92	8,7	86	8,0
Total	333	31,3	59	5,5	392	36,8	673	63,2

Tabela II

Distribuição, segundo faixa etária e soropositividade, das mulheres que realizaram sorologia para toxoplasmose em um laboratório de Caxias do Sul, no período de março a agosto de 2004.

Faixa etária (anos)	Mulheres estudadas n°/%	Mulheres Soropositivas*	Intervalo de 95% de confiança
15 - 25	288/27	101/35	29,5 - 40,8
25 - 36	599/56,2	199/34	30,2 - 38,0
37 - 49	178/16,8	92/51,7	44,0 - 59,2

*Teste do Qui-quadrado $p < 0,001$.

A prevalência de soropositividade entre as gestantes foi de 31,0% (IC 95%: 26,8 - 35,5). Sendo que, 2,8% (IC 95%: 1,5 - 4,8) apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose-IgG e para toxoplasmose-IgM. Estes resultados estão descritos na Tabela 3, assim como a proporção de gestantes suscetíveis à infecção.

Tabela III
Desfecho dos testes sorológicos para toxoplasmose IgG e IgM nas gestantes pesquisadas em um laboratório de Caxias do Sul, no período de março a agosto de 2004.

Desfecho	n°	%	Intervalo de 95% de confiança
Soropositividade			
[IgG(+);IgM(-)]	129	28,2	24,0 – 32,5
[IgG(+);IgM(+)]	13	2,8	1,5 - 4,8
Total soropositividade	142	31,0	26,8 – 35,5
Suscetibilidade			
[IgG(-);IgM(-)]	316	69,0	64,5 – 73,2
Total de amostras	458	100	

DISCUSSÃO

Este estudo analisou mulheres que realizaram testes sorológicos através de um mesmo método diagnóstico em apenas um laboratório, evitando desta forma vícios de aferição e diferenças metodológicas. O método sorológico utilizado para a detecção de anticorpos IgG apresenta sensibilidade e especificidade de 99,65% e 99,92%, respectivamente. Já para anticorpos IgM, a sensibilidade é de 96,00% e a especificidade é de 99,25%. (Manual do fabricante – bioMérieux® – Vidas® Toxo IgG e Vidas® Toxo IgM. Maio, 2003).

A detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG em 36,8% das mulheres em idade fértil pesquisadas, reflete um percentual de soropositividade abaixo daqueles encontrados em outros estudos realizados no Brasil.^{3,10} Estes chegam a demonstrar percentuais que variam de 60 a 75% de soropositividade.¹⁷ No entanto, os dados são comparáveis aos encontrados em pesquisas realizadas nos Estados Unidos, onde 15 a 50% das mulheres em idade fértil apresentam-se soropositivas.¹⁷

Entre as gestantes, a proporção de soropositividade (31%) encontra-se dentro dos limites de prevalência relatados no Brasil, que variam desde 32,4%, em São Paulo³⁰, até 77,1% no Rio de Janeiro,¹⁶ ficando abaixo dos valores obtidos em Paris (67,3%).¹¹

Neste trabalho, observou-se associação entre a soropositividade e a idade das mulheres, com uma maior prevalência (51,7%) entre aquelas na faixa dos 37 aos 49 anos. Este fato, que pode ser explicado pelo maior tempo de exposição aos fatores de risco, já foi observado em estudos anteriores.^{3,10,29}

A presença de anticorpos IgM, acompanhados dos anticorpos IgG, em 5,5% das amostras analisadas, não fornece subsídios suficientes para caracterizar a vigência de uma infecção aguda. Isto porque, a persistência das IgM anti-toxoplásmicas, após soroconversão, pode ocorrer durante vários meses ou anos, fenômeno regularmente descrito. Assim, a presença de anticorpos desta classe não permite afirmar o caráter recente da infecção na ausência de histórico sorológico.^{5,6,7,24}

Entre as mulheres grávidas, 2,8% apresentaram este perfil sorológico de difícil interpretação e, principalmente nestes casos, é preciso que a ocorrência de infecção aguda seja precisamente diagnosticada para que se estime o risco de infecção congênita. Para isto, realizam-se testes sorológicos complementares que possibilitem datar com maior precisão a idade da infecção.

A detecção de IgA anti-*Toxoplasma* pode ser utilizada para este fim. Esta classe de anticorpos possui cinética mais rápida que a IgM, desaparecendo da circulação, num período de 3 a 6 meses.^{1,26,27} Outro teste sorológico que pode ser utilizado é o índice de avides dos anticorpos IgG. O termo avides refere-se a afinidades dos anticorpos com o antígeno. Anticorpos IgG de baixa afinidade são produzidos no início da resposta imune primária e, ao longo do tempo, são selecionados os clones de linfócitos B produtores de IgG de elevada afinidade. Uma avides em níveis baixos significa infecção aguda, num período inferior a 4 meses.^{1,5,15,26,29}

O risco de infecção por toxoplasmose durante a gestação e consequente risco de transmissão congênita foi apresentado por 69% das grávidas pesquisadas. Nestes casos, o recomendado é que se realizem testes sorológicos, a cada 4 ou 5 semanas, durante toda a gestação.⁷ Esta medida permite a detecção de possível soroconversão materna que, caso ocorra, sinaliza o início do tratamento da gestante para minimizar o risco de transmissão e a gravidade das seqüelas no feto.^{6,26} A droga preferencialmente utilizada é a espiramicina, que não atravessa a barreira placentária e não oferece risco iatrogênico para o embrião.^{9,24}

Gestantes de risco (suscetíveis à infecção) devem receber, além do acompanhamento sorológico, informações sobre medidas de profilaxia capazes de minimizar os riscos de contaminação por toxoplasmose. Muitas mulheres não sabem como evitar a infecção e, comprovadamente, sabe-se que a política de advertir as gestantes quanto a medidas básicas de higiene a serem tomadas neste período pode reduzir em 63% a chance de infecção durante a gestação.^{4,8} Os resultados obtidos neste estudo não permitem estender as conclusões à população geral, visto que os dados foram obtidos em apenas um laboratório. Entretanto, este fato, garante a uniformidade de metodologia. Sendo assim, a análise dos resultados permite reafirmar a importância da realização rotineira de testes sorológicos para o diagnóstico da toxoplasmose. A situação ideal seria que todas as mulheres em idade fértil fossem submetidas a uma sorologia para toxoplasmose antes da gravidez. Isto estabeleceria seu padrão imunológico em relação à infecção e eventual risco de adquiri-la durante uma futura gestação.

Estes resultados apontam que a toxoplasmose é uma infecção com uma taxa de prevalência importante na população estudada, refletindo o risco que o grande percentual de gestantes suscetíveis possuem de contrair a infecção. Frente a estes fatos, fica claro que a redução dos casos de toxoplasmose congênita será fruto da triagem sorológica de rotina durante o pré-natal e do fornecimento de informações sobre medidas de prevenção à infecção.

REFERÊNCIAS

1. Ashburn, D.; Joss, A.W. L.; Pennington, T. H.; Ho-Yen, D. O. Do IgA, IgE, and IgG avidity test have any value in the diagnosis of toxoplasma infection in pregnancy? *J Clin Pathol.* 51:312-315, 1998.
2. Aspöck, H.; Pollak, A. Prevention of prenatal toxoplasmosis by serological screening of pregnant women in Áustria. *J Infect Dis Suppl.* 84: 32-7, 1992.
3. Coelho, R. A. L.; Kobayashi, M.; Carvalho, L. B. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil. *Rev Inst Med Trop. São Paulo*, 45(4): 229-231, july-august, 2003.
4. Cook, A. J.; Gilbert, R. E.; Buffolano, W.; Zufferey, J.; Petersen, E.; Jennum, P. A. et al. Surces of toxoplasma infection in pregnant women: European multi-centre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *BMJ.* 321: 142-7, july, 2000.
5. De Carli, G. A. Parasitologia Clínica: seleção e técnicas de laboratório para diagnóstico de parasitoses humanas. São Paulo: Atheneu, 2001.

6. Ferreira, A. W.; Camargo, M. E. Toxoplasmosis and the laboratory: diagnosis and a Constant striving for improvement. *Rev Inst Med Trop. São Paulo.* 44(3): 119-120, may-june, 2002.
7. Ferreira, W. A. *Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-imunes.* 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
8. Fowlon W. Congenital toxoplasmosis: is screening desirable? *J Infect Dis Suppl.* 84: 11-7, 1992.
9. Fuchs, F. D.; Wannmacher, L. *Farmacologia Clínica.* 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
10. Garcia, J. L.; Navarro I. T.; Ogawa, L.; Oliveira, R. C.; Kobilka, E. Soroprevalência, epidemiologia e avaliação ocular da toxoplasmose humana na zona rural de Jaguapitã (Paraná), Brasil. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health.* 6(3): 154-63, 1999.
11. Jeannel, D. Niel, G.; Costagliola, D.; Danis, M.; Traore, B. M.; Gentilini, M. Epidemiology of toxoplasmosis among pregnant women in the Paris area. *Int J Epidemiol.* 17(3): 595-602, 1988.
12. Jenum, P. A.; Kapperud, G.; Stray-Pedersen, B.; Melby, K. K.; Eskild, A.; Eng, J. Prevalence of *Toxoplasma gondii* specific immunoglobulin G antibodies among pregnant women in Norway. *J Clin Microbiol.* 36(10): 1800-2906, oct, 1998.
13. Jones, J. L.; Kruszon-Moran, D.; Wilson, M.; McQuillan, G.; Navin, T.; McAuley, J. B. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. *Am J Epidemiol.* 154(4): 357 – 65, aug, 2001.
14. Lappalainen, M.; Sintonen, H.; Koskiniemi, M.; Hedman, K.; Hilesma, V.; Ammala, P. et al. Cost-benefit analysis of screening for toxoplasmosis during pregnancy. *J Infect Dis.* 27(3): 265-72, 1995.
15. Liesenfeld, O.; Montoya, J. G.; Kinney, S.; Press, C.; Remington, J. S.; Effect of Testing for IgG Avidity in the Diagnosis of *Toxoplasma gondii* Infection in Pregnant Women: Experience in a US Reference Laboratory. *J Infect Dis.* 183: 1248-53, 2001.
16. Meireles, F. J. Toxoplasmose e gravidez: inquérito sorológico em gestantes e seus recém-nascidos na Maternidade-escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro. *J Bras Ginecol* 95: 393-401, 1985.
17. Miura, E. Infecções Congênitas e Perinatais. *Jornal de Pediatria.* 69 (2): 80-96, 1993.
18. Mombro, M.; Perathoner, C.; Leone, A.; Buttafuoco, V.; Zotti, C.; Lievre, M. A.; Fabris, C. Congenital toxoplasmosis: assessment of risk to newborns in confirmed and uncertain infection. *Eur J Pediatr.* 162(10): 703-6, oct, 2003.
19. Mozzatto, L.; Procianoy, R.S. Incidence of Congenital toxoplasmosis in Southern Brazil: A Prospective Study. *Rev Int Med Trop. São Paulo,* 45(3): 147-151, may-june, 2003.
20. Neto, E. C.; Anelo, E.; Rubim, R. Brites, A.; Schulte, J.; Becker, D.; Tuminem, T. High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in a 3 year prospective neonatal screening study. *Int J Epidemiol.* 29: 941-947, 2000.
21. Neves, D. P. et al. *Parasitologia Humana.* 10 ed. São Paulo: Atheneu, 2001.
22. Petersson, K.; Stray-Pedersen, B.; Malm, G.; Forgsgrén, M.; Evengård, B. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among pregnant women in Sweden. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 79(10): 824-9, oct, 2000.
23. Reiche, E. M. V.; Morimoto, H. K.; Faria, G. N.; Hisatsugo, K. R.; Geller, L.; Gomes, A. C. L. F.; Inoue, H. Y.; Rodrigues, G.; Matsuo, T. Prevalência de tripanossomíase americana, sífilis, toxoplasmose, rubéola, hepatite B, hepatite C e da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, avaliada por intermédio de testes sorológicos, em gestantes atendidas no período de 1996 a 1998 no Hospital Universitário Regional Norte do Paraná (Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil). *Rev Soc Bras Med Trop.* 33(6): 519-527, nov-dez, 2000.
24. Rey, L. *Bases da Parasitologia Médica.* 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
25. Silva, G. R. S.; Silva, D. A. O.; Mineo, J. R.; Ferreira, M. S. A Comparative Study of Congenital Toxoplasmosis between Public and Private Hospitals from Uberlândia, MG, Brazil. *Mem Int Oswaldo Cruz.* Rio de Janeiro, 99(1): 13-17, february, 2004.
26. Spalding, S. M.; Amendoeira, M. R. R.; Ribeiro, L. C.; Silveira, C.; Garcia, A. P.; Camillo-Coura, L. Estudo prospectivo de gestantes e seus bebês com risco de transmissão de toxoplasmose congênita em município do Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop.* 36(4): 483-491, jul-ago, 2003.
27. Stepick-Biek, P.; Thulliez, P.; Araujo, F.G.; Remington, J.S.; IgA antibodies for diagnosis of acute congenital and acquired toxoplasmosis. *J Infect Dis.* 162(1): 270-3, jul, 1990.
28. Thulliez, P. Screening program for congenital toxoplasmosis in France. *J Infect Dis Suppl.* 84: 43-5, 1992.
29. Varella, I. S.; Wagner, M. B.; Darel, A. C.; Nunes, L. M.; Muller, R. W. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. *Jornal de Pediatria.* 79(1): 69-74, 2003.
30. Vaz, A. J.; Guerra, E. M.; Ferratto, L. C. C.; Toledo, L. A. S.; Azevedo Neto, R. S. Sorologia positiva para sífilis, toxoplasmose e doença de Chagas em gestantes de primeira consulta em centros de saúde da área metropolitana, Brasil. *Rev Saúde Pública.* 24: 373-9, 1990.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Luiza Detanico

Rua Antonio Prado, 24/101

CEP. 95080-140 - Caxias do Sul - RS

33º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 6º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

04 a 08 de junho de 2006

Local:

Estação Embratel Convention Center - Curitiba - PR

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Bacteriúria assintomática em gestantes do Centro de saúde ambulatorial Abdoral Machado, Crateús – CE.

Asymptomatic bacteriuria in pregnant women of the Centro de saúde ambulatorial Abdoral Machado, Crateús – CE.

Nádia Accioly P. Nogueira¹ & Maria Aparecida A. Moreira²

RESUMO - Um grupo de 80 gestantes atendidas no CESA-AM, não apresentando quais-quer sintomas ou sinais de infecção urinária, foi selecionado através de entre-vista para investigação da incidência de Bacteriúria Assintomática (BA). O diagnóstico de BA foi realizado através de urocultura, a sensibilidade dos agentes etiológicos isolados foi avaliada por antibiograma e a incidência de BA foi correlacionada com idade, parição e trimestre de gestação. Nove (11,25%) gestantes apresentaram BA e a maior incidência ocorreu na faixa etária de 15 a 25 anos, na primeira gestação e após o primeiro trimestre de gestação. A enterobactéria *Escherichia coli* foi o principal agente etiológico isolado (77,78%) e todas as cepas mostraram sensibilidade à nitrofurantoína e resistência às sul-fonamidas e ampicilina.

PALAVRAS-CHAVE - Bacteriúria assintomática, gestantes, *Escherichia coli*

SUMMARY - A group of 80 pregnant women, who didn't have any symptom or signs of urinary tract infection (UTI), was attended at CESA-AM and was selected by inter-view to participate at a study about the incidence of Asymptomatic Bacteriuria (AB). The diagnostic AB was established by urine culture, the sensitivity of etiological agents was evaluated by antibiogram and the AB was related to age, number of pregnancy and trimester of pregnancy. Nine (11,25%) women presented AB and the higher incidence happened in the range of age between 15 and 25 years old, at first-pregnant women and just after the first trimester of pregnancy. The enterobacterium *Escherichia coli* was the major etiological agent found (77,78%) and all isolated strains were sensitive to nitrofurantoin and resistant to sulfonamid and ampicillin.

KEYWORDS - Asymptomatic Bacteriuria, pregnant women, *Escherichia coli*

INTRODUÇÃO

As Infecções do Trato Urinário (ITU) são patologias de ocorrência freqüente e acometem pessoas de todas as faixas de idade. Entre os diversos agentes etiológicos responsáveis pelas ITU destacam-se os germes Gram-negativos entericos, especialmente a espécie *Escherichia coli*. Nas ITU gestacionais a *E. coli* é o uropatógeno mais freqüente, sendo responsável por mais de três quartos dos casos (Duarte *et al.*, 1997).

Na gestação, a ocorrência de ITU varia de 2 a 10% (Graham *et al.*, 2001) e está associada a uma maior incidência de nascimentos de crianças prematuras e/ou de baixo peso, assim como, uma maior mortalidade perinatal e maior morbidade materna (Heilberg & Schor, 2003).

A bacteriúria assintomática é definida como a ocorrência de proliferação bacteriana na urina de pacientes com ausência de sinais e sintomas de infecção aguda. Para considerá-la significativa e diferenciá-la de contaminação é necessária, pelo menos, a realização de duas culturas de urina, nas quais, o mesmo germe deve ser isolado e a contagem de colônias em placas deve ser superior ou próxima a 10⁵ UFC/mL (Heilberg & Schor, 2003).

Na gravidez, a incidência de BA varia de 2 a 14 % (Uncu *et al.*, 2002), tende a ser persistente e tem um baixo índice de cura espontânea, podendo evoluir até pielonefrite aguda, quando não tratada (Lindheimer & Davison, 1993; Smaill, 2001). Devido ao risco de bacteriúria assintomática, as gestantes devem ser rastreadas em sua primeira avaliação pré-natal (Lindheimer & Davison, 1993).

Esse trabalho teve como objetivos avaliar a prevalência de bacteriúria assintomática em gestantes atendidas no CESA-AM, de Crateús-CE, identificar os agentes etiológicos responsáveis e sua sensibilidade a antimicrobianos e conhecer o perfil sócio-econômico, cultural e obstetra das gestantes portadoras de BA.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de setembro a novembro de 2002, foi selecionado um grupo de 80 gestantes atendidas no CESA-AM, de Crateús-CE, todas com ausência de sintomas e sinais de ITU. Esse grupo foi entrevistado para que fossem obtidas informações sobre situação sócio-econômica, cultural e obstetra. A ocorrência de BA foi diagnosticada por urocultura em meio de Cled (Merck) e MacConkey (Merck). As urinas foram colhidas por micção espontânea e as uroculturas foram realizadas em duplicata. As gestantes, que apresentaram nas duas uroculturas contagem de colônias em placa superior a 10⁵ UFC/mL e o isolamento do mesmo agente etiológico, foram consideradas portadoras de BA. Os agentes etiológicos isolados foram identificados por provas bioquímicas, utilizando-se o Kit para Enterobactérias-Newprov, de acordo com as instruções do fabricante, e a sensibilidade das cepas isoladas foi determinada pelo método da difusão em meio sólido (NCCLS, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maioria das gestantes entrevistadas era mulheres jovens, com idade entre 15 a 25 anos (58,75%), casadas (60,0%), de baixo nível de instrução (1º grau incompleto, 52,5%), de baixa renda familiar (menos de um salário mínimo, 52,5%) e donas de casa (31,25%).

A predominância de gestantes na faixa etária de 15 a 25 anos de idade (58,75%), devido a um início precoce da vida sexual, deve estar relacionada, principalmente, ao desconhecimento de métodos de prevenção e de controle da natalidade (Tabela 1). Dessas gestantes, a grande maioria (35; 74,47%) estava na primeira gestação. Vinte e duas gestantes (75,86%), com idades entre 26 e 35 anos, estavam pelo menos na segunda gestação, confirmando que no

Recebido em 05/03/2004

Aprovado em 14/11/2005

¹Professora de Microbiologia do Departamento de Análises Clínicas (DACT) da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE) da Universidade Federal do Ceará (UFC); ²Farmacêutica Bioquímica do Centro de saúde ambulatorial Abdoral Machado (CESA-AM), Crateús-CE

grupo estudado o período de procriação teve início bastante cedo, quando as mulheres ainda eram muito jovens.

Tabela I
Distribuição das gestantes atendidas no CESA-AM (Crateús-CE), de acordo com a faixa etária e parição, no período de setembro a novembro de 2002.

Faixa etária (anos)	Parição			Gestantes (Nº, %)
	1ª Gestação	2ª Gestação	3ª Gestação ou mais	
15-25	35	06	06	47 (58,75)
26-35	07	13	09	29 (36,25)
36-45	02	01	01	04 (5)
Total (Nº, %)	44 (55)	20 (25)	16 (20)	80 (100)

A incidência de BA nas gestantes estudadas foi de 11,25% (9 casos) (Gráfico 1; Tabela 2), o que está de acordo com trabalhos realizados anteriormente, onde foi constatada uma incidência na faixa de 2 a 14% (Uncu *et al.*, 2002). Todos os casos de BA constatados foram diagnosticados nos 2º e 3º trimestres gestacionais, 5 (6,25% do total de uroculturas realizadas) e 4 (5% do total de uroculturas realizadas), respectivamente (Tabela 2). Esses resultados discordam daqueles obtidos por Srougi (1999), nos quais, a maior incidência de BA ocorreu no 1º trimestre de gestação. No entanto, estão de acordo com estudos relatados por Kass (1960), que observou uma predominância de BA em gestantes nos 2º e 3º trimestres. Segundo o autor, essa frequência está relacionada às alterações anatómicas e funcionais que ocorrem na mulher após o 1º trimestre gestacional.

Tabela II
Bacteriúria Assintomática em gestantes atendidas no CESA-AM (Crateús-CE), de acordo com a parição e trimestre de gestação, no período de setembro a novembro de 2002.

Parição	Trimestre de Gestação						Uroculturas	
	1º		2º		3º			
	Uroculturas							
	N	BA	N	BA	N	BA	N	BA
1ª Gestação	6	0	21	4	17	4	44	8
2ª Gestação	5	0	9	1	6	0	20	1
3ª Gestação	4	0	1	0	11	0	16	0
ou mais								
Total	15	0	31	5	34	4	80	9

N = urinoculturas realizadas; BA = bacteriúria assintomática

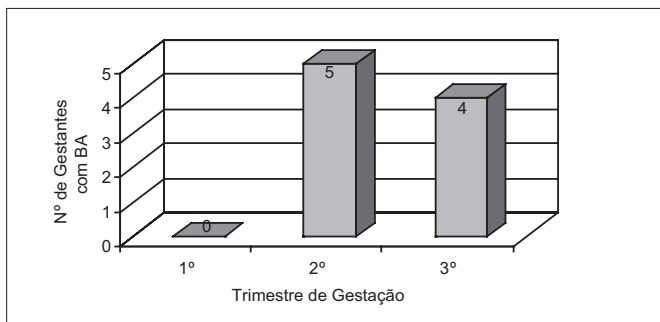


Gráfico 1– Bacteriúria Assintomática (BA) em gestantes atendidas no CESA-AM (Crateús-CE), de acordo com o trimestre de gestação, no período de setembro a novembro de 2002.

A distribuição de casos de BA segundo a faixa etária (Tabela 3) nos mostra uma maior incidência de BA em mulheres de 15 a 25 anos (77,78 %), seguida daquelas de 26 a 35 anos (22,2 %) e nenhum caso nas gestantes com idade superior a 35 anos. Kass (1960) considera ser a idade um dos principais fatores de risco para o estabelecimento de bacteriúria assintomática em gestantes. Esse autor constatou uma maior incidência de BA em gestantes com mais que 35 anos de idade e várias gestações, do que naquelas com menos de 21 anos e na primeira gestação, e relacionou como fatores de risco a idade, a parição e o nível sócio-econômico. Embora nossos resultados discordem daqueles obtidos por Kass (1960), não podemos desconsiderar o fato de que apenas 5% das gestantes estudadas tinham idade superior a 35 anos (Tabela 1).

Tabela III
Bacteriúria Assintomática em gestantes atendidas no CESA-AM (Crateús-CE), de acordo com a faixa etária, no período de setembro a novembro.

Faixa Etária (anos)	Bacteriúria Assintomática	
	Nº	%
15-25	7	77,78
26-35	2	22,22
36-45	0	0
Total	9	100

A maioria das gestantes com BA (6; 66,67% das gestantes com BA) não concluíram o 1º grau e tinha renda familiar mensal inferior a 1 salário mínimo (Tabela 4), sugerindo que desnutrição, hábitos de higiene inadequados e desinformação contribuem para o estabelecimento de infecções, entre elas as infecções urinárias. Esses achados estão de acordo com as conclusões de Silva *et al.* (2002), ao observarem que gestantes de classes sociais mais baixas, independente da cor ou raça, apresentam taxa de morbidade mais elevada que aquelas pertencentes a classes sociais mais favorecidas.

Tabela IV
Bacteriúria Assintomática em gestantes atendidas no CESA-AM (Crateús-CE), de acordo com a escolaridade e renda familiar, no período de setembro a novembro de 2002.

Renda familiar (Salário mínimo)	Escolaridade		Total
	1º grau incompleto	1º grau completo	
Inferior	6 (66,67%)	-	6 (66,67%)
Igual ou superior	-	3 (33,33%)	3 (33,33%)
Total	6 (66,67%)	3 (33,33%)	9 (100,00%)

A espécie microbiana isolada com maior frequência como agente etiológico responsável pela ocorrência de BA gestacional, no grupo estudado, foi a enterobactéria *Escherichia coli* (77,78%) (Tabela 5), o que está de acordo com estudos realizados por diversos pesquisadores, nos quais, esta espécie se destaca como a principal causa das infecções urinárias, tanto na comunidade quanto no hospital (Duarte *et al.*, 1997; Srougi, 1999).

Tabela V
Agentes etiológicos isolados em uroculturas de gestantes atendidas no CESA-AM (Crateús-CE), no período de setembro a novembro de 2002.

Espécie Bacteriana Isolada	Isolamento	
	Nº	%
<i>Escherichia coli</i>	7	77,8
<i>Enterobacter</i> sp	1	11,1
<i>Klebsiella</i> sp	1	11,1
Total	9	100

As cepas de *E. coli* responsáveis por BA são, de acordo com Srougi (1999), variantes menos virulentos que se adaptam ao hospedeiro, o que explica a ausência de sinais e sintomas clínicos bem determinados na bacteriúria assintomática.

A sensibilidade das cepas isoladas foi determinada pelo teste do antibiograma, utilizando-se discos de Nitrofurantoína, Norfloxacima, Cefalexina, Amoxicilina, Gentamicina, Imipenem, Cefuroxima, Ciprofloxacim, Cefalotina, Ácido Nalidíxico, Sulfonamida e Ampicilina.

Todas as cepas de *E. coli* isoladas das uroculturas das gestantes estudadas apresentaram resistência às Sulfonamidas e Ampicilina e sensibilidade à Nitrofurantoína. Sendo a maioria, 6 (85,71%), também resistente ao Ácido Nalidíxico. Os antimicrobianos Nitrofurantoína, Norfloxacim, Imipenem e Ciprofloxacim foram os fármacos mais eficientes em inibir o crescimento de *E. coli*, *in vitro*.

Uma única cepa de *Enterobacter* foi isolada nesse estudo e apresentou resistência à Nitrofurantoína, Ácido Nalidíxico, Sulfonamidas e Ampicilina e sensibilidade à todas as outras drogas testadas. Também, foi isolada uma cepa de *Klebsiella*, que, ao antibiograma, apresentou resistência ao Ácido Nalidíxico e às Sulfonamidas e sensibilidade às demais drogas testadas.

De acordo com os resultados obtidos para os antibiogramas realizados, podemos concluir serem o Ácido Nalidíxico e as Sulfonamidas ineficazes no tratamento de infecções urinárias causadas por *E. coli*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, devido

à elevada resistência desses patógenos a essas drogas.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesse trabalho enfatizam a necessidade de se detectar a ocorrência de bacteriúria assintomática em gestantes, assim como, ressaltam a importância da determinação do perfil de sensibilidade dos agentes etiológicos isolados.

REFERÊNCIAS

- Duarte, G., Matos, M. A., Cunha, S. P., Nogueira, A. A., Mauad, Filho F., Bezowski, A. T. Infecção urinária durante a gravidez. Rev Bras Ginecol Obstet. ; 19:495-503, 1997.
- Graham, J. C., Leathart, J. B. S., Keegan, S. J., Pearson, J., Bint, A., Gally, D. L. Analysis of *Escherichia coli* strains causing bacteriuria during pregnancy: Selection for strains that do not express type 1 fimbriae. Infection and Immunity. 69(2): 794-799, 2001.
- Heilberg, I. P. & Schor, N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário – ITU. Rev Assoc Méd Brás. 49(1): 109-116, 2003.
- Kass, E. H. Bacteriuria and pyelonephritis of pregnancy. Arch Intern Med. 105: 194-198, 1960
- Lindheimer, M. D., Davison, J. M. Complicações renais. In: William, M. B., Marshall, D.L. Complicações Médicas na Gravidez. Porto Alegre: Artes Médicas. 1993. p.28-44.
- NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 6th ed. Wayne, Approved Standard: M2-A6, 1997
- Silva, C. B., Levy, C. E., Mimica, L. M. J. Processamento e interpretação de uroculturas. Rev Laes e Haes. 5(139):92-106. 2002.
- Smaill, F. Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy. Cochrane Database Syst. Rev. 2001(2), 2001.
- Srougi, M. Infecção Urinária. In: Cury, J., Simonetti, R., Srougi, M. Ur-gências em Urologia. São Paulo: Sarvier, 1999. p. 359-362.
- Uncu, Y., Uncu, G., Esmer, A., Bilgel, N. Should asymptomatic bacteriuria be screened in pregnancy? Clin Exp Obstet Gynecol. 29(4): 281-285, 2002.

ENDEREÇO para correspondência

Professora Doutora Nádia A. P. No-gueira. Rua Andrade Furtado 1069 apto 303, Papicu. Fortaleza-CE, CEP 60.190-070. e-mail: accioly@secrel.com.br

33º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 6º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

04 a 08 de junho de 2006

Local:

Estação Embratel Convention Center - Curitiba - PR

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

PRÊMIO PNCQ

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

- 1) O Prêmio PNCQ é promovido pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, com o patrocínio do Programa Nacional de Controle de Qualidade - PNCQ;
- 2) O Prêmio será no valor correspondente a R\$ 5.000,00 (cinco mil reais), além de diploma alusivo;
- 3) O Prêmio será entregue na solenidade programada pela SBAC nos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas - CBAC.

II - DOS OBJETIVOS

O "Prêmio PNCQ" tem por objetivos:

- 1) Estimular o desenvolvimento de pesquisas na área de Controle de Qualidade no País; e
- 2) Premiar o melhor trabalho sobre controle de qualidade inscrito e apresentado na sessão de Temas Livres dos CBAC, com vistas a melhoria técnica do Laboratório Clínico.

III - DA PARTICIPAÇÃO

- 1) Poderão concorrer ao Prêmio, todos os trabalhos inscritos e apresentados na sessão de Temas Livres dos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas;
- 2) Para concorrer ao Prêmio, os autores deverão remeter à Secretaria da SBAC, até 30 dias antes do Congresso, 05 (cinco) cópias em papel do trabalho original completo e uma cópia em disquete ou CD (linguagem Word for Windows), atendendo às normas de publicação da Revista Brasileira de Análises Clínicas, contendo: introdução (com objetivo definido do trabalho) material e métodos, resultados, discussão, conclusão, bibliografia, resumo em português, summary em inglês, palavras chaves (uniterms) e key words (uniterms).
- 3) Os trabalhos concorrentes deverão ser escritos em português e ser originais, ainda não publicados nem comprometidos para publicação em qualquer Revista Científica da Especialidade;
- 4) O trabalho premiado será obrigatoriamente publicado na íntegra, com exclusividade, na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 5) Os demais trabalhos selecionados pela Comissão Julgadora para concorrer ao Prêmio PNCQ, poderão ser publicados na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 6) O não atendimento aos itens 1 à 3 desqualifica o trabalho e/ou o recebimento do Prêmio.

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

- 1) A Comissão Julgadora será composta de pelo menos 05 (cinco) membros nomeados pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, sendo um o Presidente;
- 2) A composição da Comissão Julgadora será divulgada pela SBAC nos Programas oficiais dos CBAC;
- 3) A Comissão Julgadora selecionará os 03 (três) melhores trabalhos apresentados, outorgando a um deles o Prêmio PNCQ, e aos outros 02 (dois), será outorgado um diploma de Menção Honrosa;
- 4) A decisão da Comissão Julgadora é soberana e irrecorrível.

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

- 1) O Prêmio PNCQ é indivisível e será conferido a apenas um trabalho, ficando a inteiro critério dos autores seu eventual rateio;
- 2) O Trabalho concorrente ao Prêmio PNCQ obrigatoriamente, deve ser apresentado em sessão de Temas Livres por um dos autores regularmente inscrito no Congresso;
- 3) Caso a Comissão Julgadora dos Prêmios decidir não premiar nenhum dos trabalhos apresentados para concorrer ao prêmio em virtude de não atingir os objetivos de prêmios, o valor deste será revertido para pagamento dos anúncios da empresa promotora publicados na RBAC, no SBAC Jornal e divulgados no site da SBAC.
- 4) Os casos omissos serão resolvidos pela Diretoria da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, ouvida a Comissão Julgadora.

Rio de Janeiro, 30 de dezembro de 2004.

Dr. Ulisses Tuma
Presidente

Informações:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

Prêmio PNCQ

Rua Vicente Licínio, 95 • Tijuca • 20270-902 • Rio de Janeiro • RJ

Avaliação dos parâmetros sanguíneos de hepatotoxicidade em coelhos normais submetidos a tratamentos com antocianina e antocianina + naringenina

Evaluation in the sanguine paramters of hepatotoxicity in normal rabbits subimitted to treatment with anthcyanin and anthocyanin + naringenin

Joselito Nardy Ribeiro¹; Tânia Toledo de Oliveira¹; Tanus Jorge Nagem²; Davilson Bragine Ferreira Junior¹ & Aloísio da Silva Pinto³.

RESUMO - Diversos trabalhos têm atribuído aos flavonóides inúmeras propriedades farmacológicas. Dentre esses flavonóides a antocianina (extraída da uva roxa) e a naringenina (extraída da laranja) demonstraram redução dos níveis sanguíneos de glicose e triacilglicerol em coelhos diabéticos.

Apesar de, segundo relatos na literatura, a toxicidade em relação flavonóides parecer rara, são citadas reações adversas, quando usadas doses farmacológicas crônicas, como hepatite e perda de peso de alguns órgãos como o fígado.

O presente ensaio teve como objetivo investigar se as substâncias testadas nessas doses terapêuticas ocasionavam algum efeito adverso no metabolismo hepático de coelhos normais.

O experimento teve 30 dias de duração, sendo as medidas de peso e dosagens dos constituintes do sangue (proteínas totais, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, gama - glutamiltranspeptidase) realizadas a 0, 15 e 30 dias.

Os resultados indicaram que, de modo geral, as substâncias - teste não ocasionaram alterações relevantes no metabolismo desses animais saudáveis.

PALAVRAS-CHAVE - Antocianina, Naringenina, Hepatotoxicidade

SUMMARY - Several works have been attributing to the flavonoids countless pharmacological properties. Among those flavonoids, the anthocyanin (extracted of the purple grape) and naringenin (extracted of the orange) showed reducing glucose and triacylglycerol levels in the blood of diabetic rabbits.

According to literature reports, regardless the toxicity relating flavonoids seems rare, adverse reactions are mentioned, when used chronic pharmacological doses, as hepatitis and weight loss of some organs as liver.

The present assay had as objective to investigate if the substances tested in those therapeutic doses caused any adverse effect in the hepatic metabolism of normal rabbits.

The experiment lasted 30 days, where the weight measures and the constituents of the blood dosages (total proteins, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma - glutamiltranspeptidase) were checked in 0, 15 and 30 days.

The results indicated that, in general, the substances tested didn't cause relevant alterations in the metabolism of those healthy animals.

KEYWORDS - Anthocyanin, Naringenin, Hepatotoxicity

INTRODUÇÃO

Os flavonóides antocianinas são os principais pigmentos responsáveis pelas cores das flores. Muitas dessas substâncias se apresentam nas cores: vermelho e azul. Elas são hidrossolúveis e se localizam nos vacúolos. A cor de um pigmento antocianínico depende da acidez encontrada no vacúolo; por exemplo, a cianidina é vermelha em meio ácido, violeta em meio neutro e azul em meio básico. Em algumas plantas, as flores mudam de cor após a polinização, geralmente pela grande produção de antocianinas (RAVEN; EVERT; EICHORN, 1996).

As antocianinas não estão presentes apenas como pigmentos de flores, mas aparecem também em uvas roxas, morangos, amoras pretas, jabuticabas, cerejas, casca da batata doce, cebola roxa, repolho roxo etc. (FREUND; WASHAM; MAGGLON, 1988).

DRENSKA; BANTUTOVA; OVCHAROV (1989) verificaram que as antocianinas possuem atividade anticonvulsivante, enquanto TAMURA e YAMAGAMI (1994) demonstraram que esses flavonóides possuem atividade antiinflamatória.

A naringenina é um flavonóide que pertence à classe das

flavonas. Essa substância apresenta-se sem cor e é encontrada, em grande quantidade, em frutas cítricas; sua importância se deve ao fato de, por reações químicas simples, darem origem às diidrochalconas, compostos de sabor doce bem acentuado e substitutos em potencial da sacarose (BOBBIO e BOBBIO, 1995).

Estudos de diversos pesquisadores têm demonstrado várias bioatividades dos flavonóides (HERTOG et al., 1993). Tem-se relatado, por exemplo, que os flavonóides inibem a peroxidação de lipídios (RATTY e DAS, 1988) e a agregação de plaquetas (TZENG et al., 1991). Os flavonóides exercem efeitos antioxidantes, atuando contra os radicais livres (FRAGA et al., 1987).

OLIVEIRA et al. (1997) verificaram que, a uma concentração de 10^{-5} M, os flavonóides naringenina, rutina e quercetina apresentaram uma alta ação na inibição da enzima aldose redutase de *E. Coli* que é a enzima que catalisa a redução de glicose e galactose, produzindo sorbitol e dulcitol, respectivamente, usando como co-fator o NADH. Essa enzima tem sido encontrada em tecidos de animal como córnea, retina, sangue etc. A excessiva presença de sorbitol em ratos e humanos diabéticos causam a formação de cataratas.

Recebido em 17/11/2004

Aprovado em 12/07/2005

¹Laboratório Biofármacos. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil;

²Departamento de Química da Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil;

³Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Estudos de NAGEM *et al.* (1999) demonstraram redução estatisticamente significativa dos níveis de colesterol e triacilgliceróis em ratos adultos da raça *Wistar* com o tratamento com naringina e antocianina associadas. Verificaram ainda que, embora não estatisticamente significativo, os resultados evidenciaram uma tendência de aumento de colesterol – HDL.

RIBEIRO (2001) verificou que doses de 10mg de antocianina de uva roxa e 10mg de naringenina de laranja proporcionou ganho de peso considerável assim como redução dos níveis sanguíneos de glicose e triacilgliceróis em coelhos, machos albinos da raça Nova Zelândia, com diabetes induzida com aloxano. Verificou ainda esse ganho de peso e reduções dos níveis de glicose e triacilgliceróis com dose de 20mg de antocianina no mesmo modelo animal.

A toxicidade de flavonóides para animais e humanos parece ser extremamente rara, já que nenhum resíduo de flavonóide foi encontrado em acúmulo no corpo (KUHNAU, 1976). No entanto, têm-se relatado reações adversas à administração de flavonóides em doses farmacológicas crônicas (JAEGGER; WALT; NEFTL, 1988) quando se excede o recomendado, que é de 23 mg/dia (HERTOG *et al.* 1993) a 170 mg /dia (KUHNAU, 1976). Efeitos tóxicos tem sido documentados com a administração de doses de 1 a 1,5 mg/dia de flavonóides, como o cianidanol. Esses efeitos são: falha renal grave, anemia hemolítica, trombocitopenia, hepatite, febre e reações adversas na pele (CRIQUI e RINGEL, 1994).

CRIQUI e RINGEL (1994) verificaram que, com uma dieta de 2 % de quercetina, ratos desenvolviam câncer de bexiga. No entanto, HIRONO *et al.* (1981) não observaram essa doença quando administraram acima de 10 % desse mesmo flavonóide na dieta de ratos.

TIMBERLAKE e BRIDLE (1980), estudando, durante 90 dias, os efeitos de antocianinas extraídas da uva *Vitis labrusca* na reprodução de cães e ratos, observaram efeito colateral em cães da raça Beagle machos, no entanto esses animais consumiram menos alimentos e por causa disso, perderam massa corpórea durante as cinco primeiras semanas de estudo. Em duas gerações de ratos houve perda de paladar e perda de peso em alguns órgãos, como o fígado. Entretanto, nenhum efeito colateral foi observado quando se estabeleceu um nível de 7,5% de antocianinas na dieta, equivalente a cerca de 5 mg/kg de peso corporal/dia.

OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo investigar se as substâncias antocianina e naringenina associada à antocianina ocasionam algum efeito adverso nos níveis sanguíneos de marcadores da função hepática em coelhos saudáveis.

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste ensaio foram utilizados 24 coelhos saudáveis, machos, albinos da raça Nova Zelândia, com idade de dois meses.

Após a chegada desses animais eles foram acondicionados em gaiolas individuais, permanecendo a temperatura ambiente por cinco dias, para adaptação, recebendo água à vontade e sendo alimentados, diariamente, com 120g de ração para coelhos da marca Linha Natural da Purina.

Após esse período esses animais foram divididos ao acaso nos seguintes grupos: Grupo 1 (G1) composto por seis animais, que receberam apenas 120 g de ração diariamente e água à vontade (grupo-controle), Grupo 2 (G2) composto

por seis animais, que receberam 120 g de ração, água à vontade e uma cápsula de 100 mg de talco farmacêutico diariamente, Grupo 3 (G3) composto por seis animais, que receberam 120 g de ração, água à vontade e uma cápsula de 20 mg de antocianina diariamente, Grupo 4 (G4) composto por seis animais, que receberam 120 g de ração, água à vontade e uma cápsula contendo a mistura de 10 mg de antocianina + 10 mg de naringenina diariamente.

Os exames de sangue foram realizados aos 0, 15 e 30 dias. O sangue dos animais foi retirado pelo plexo retro orbital para serem realizadas as dosagens no soro sanguíneo de proteínas totais, albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gama - glutamiltransferase (γ -GT). Estas dosagens foram realizadas utilizando-se o aparelho Alizé (analisador multiparamétrico de bioquímica) e "kits" da marca BIOLAB.

Procedeu-se à análise de variância e ao teste de F ($P < 0,05$ e $P < 0,01$).

Os grupos G1 e G2 foram comparados entre si pelo teste de F. Os grupos G3 e G4 foram comparados entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e com os grupos G1 e G2 por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

O efeito do tempo foi verificado por meio do desdobramento do tempo dentro de tratamentos e testado pelo teste F ($P < 0,05$ e $P < 0,01$).

RESULTADOS

Os resultados referentes aos níveis médios no soro de Proteínas Totais e suas respectivas percentagens de variação encontram-se na tabela 1.

Tabela 1
Valores médios de Proteínas Totais, em mg/dL, e percentual de variação em relação aos grupos controle, em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados aos 0, 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupo tratado	Proteínas (mg/dL)	Variação (%) em relação a G1	Variação (%) em relação a G2
0	G1-ração	51,90 ^A	-	-
	G2-ração	51,52 ^A	-	-
	G3-ração	48,33 ^B	-	-
	G4-ração	57,23 ^B	-	-
15	G1-ração	51,70 ^A	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	52,40 ^A	-	-
	G3-ração + antocianina	47,65 ^B	-7,83	-9,06
	G4-ração + antocianina + naringenina	57,02 ^B	+10,29	+8,82
30	G1-ração	53,13 ^A	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	51,27 ^A	-	-
	G3-ração + antocianina	48,63 ^B	-38,14*	-5,15
	G4-ração + antocianina + naringenina	59,65 ^B	-27,70*	+16,34

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Em cada tempo A difere de B pelo teste de F ($P < 0,05$).

*Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$) em cada tempo.

Segundo os resultados apresentados na tabela 1 nenhuma diferença foi estatisticamente significativa.

Os resultados obtidos neste modelo experimental indicaram que os flavonóides utilizados não alteraram significativamente os níveis normais de Proteínas totais no sangue dos animais. Isso leva a crer que não ocorreram danos ao organismo desses animais, por exemplo, lesões hepáticas, resultantes da administração dessas substâncias. Além disso, sabendo que os níveis normais de proteínas plasmáticas em coelhos é em torno de 50 a 53 mg/dL, verificou-se que os mesmos estão de acordo com os apresentados na tabela 1.

Os resultados referentes aos níveis médios de Albumina no soro e suas respectivas percentagens de variação encontram-se na tabela 2.

Tabela II
Valores médios de Albumina, em mg/dL, e percentual de variação em relação aos grupos controle, em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados aos 0, 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupo tratado	Albumina (mg/dL)	Variação (%) em relação a G1	Variação (%) em relação a G2
0	G1-ração	4,43 ^A	-	-
	G2-ração	4,42 ^A	-	-
	G3-ração	4,54 ^a	-	-
	G4-ração	4,51 ^a	-	-
15	G1-ração	4,45 ^A	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	4,44 ^A	-	-
	G3-ração + antocianina	4,53 ^a	+1,80	+2,03
	G4-ração + antocianina + naringenina	4,51 ^a	+1,35	+1,58
30	G1-ração	4,46 ^A	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	4,44 ^A	-	-
	G3-ração + antocianina	4,54 ^a	+1,79	+2,25
	G4-ração + antocianina + naringenina	4,49 ^a	+0,67	+1,13

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Em cada tempo A difere de B pelo teste F (P< 0,05).

*Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett (P< 0,05) em cada tempo.

Pela análise da tabela 2 observou-se que as diferenças obtidas não foram estatisticamente significativas.

Os resultados obtidos neste ensaio indicam que as substâncias-teste não ocasionaram alterações significativas nos níveis normais de albumina dos animais dos grupos G3 e G4. Essa conclusão é reforçada quando se observa a semelhança dos níveis dessa proteína, com os valores encontrados na literatura, com relação a coelhos, da ordem de 4,0 a 4,5 mg/dL.

Os resultados referentes aos níveis médios da alanina aminotransferase no soro (ALT) e suas respectivas percentagens de variação encontram-se na tabela 3.

Tabela III
Valores médios de ALT, em U.I., e percentual de variação em relação aos grupos controle, em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados aos 0, 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupo tratado	ALT (U.I.)	Variação (%) em relação a G1	Variação (%) em relação a G2
0	G1-ração	106,33 ^A	-	-
	G2-ração	40,00 ^B	-	-
	G3-ração	41,00 ^b	-61,44*	+2,50
	G4-ração	96,00 ^a	-9,72	+140,00
15	G1-ração	101,33 ^A	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	41,50 ^B	-	-
	G3-ração + antocianina	41,50 ^b	-59,04*	-19,69
	G4-ração + antocianina + naringenina	92,17 ^a	-9,04	0
30	G1-ração	104,00 ^A	-	+122,10*
	G2-ração + talco farmacêutico	41,00 ^B	-	-
	G3-ração + antocianina	40,33 ^b	-61,22*	-1,63
	G4-ração + antocianina + naringenina	96,33 ^a	-7,38	+134,95*

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Em cada tempo A difere de B pelo teste F (P< 0,05).

*Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett (P< 0,05) em cada tempo.

A análise da tabela 3 mostrou que grupo 3 (G3) apresentou diferença significativa pelo teste de Dunnett. No primeiro dia de experimento, antes de se administrar a mistura de flavonóides já havia ocorrido aumento de 140% na atividade de ALT do grupo G4 em relação ao G2. Além disso, esse grupo não apresentou diferenças significativas, durante todo o ensaio, em relação ao grupo-controle, que recebeu apenas ração (G1).

Embora pareça que as substâncias – testes influenciaram profundamente a ALT, deve-se considerar que o grupo G3 já apresentava aumentos estatisticamente significativos, em relação o grupo G1, antes mesmo de se iniciarem os tratamentos. Isso quer dizer que já era da natureza desse grupo essa relação de divergência.

Os resultados referentes aos níveis médios da aspartato aminotransferase no soro (AST) e suas respectivas percentagens de variação encontram-se na tabela 4.

Tabela IV
Valores médios de AST, em U.I., e percentual de variação em relação aos grupos controle, em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados aos 0, 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupo tratado	AST (U.I.)	Variação (%) em relação a G1	Variação (%) em relação a G2
0	G1-ração	65,50 ^A	-	-
	G2-ração	81,67 ^A	-	-
	G3-ração	56,00 ^a	-	-
	G4-ração	64,50 ^a	-	-
15	G1-ração	65,83 ^A	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	83,33 ^A	-	-
	G3-ração + antocianina	55,67 ^a	-15,43	-31,99
	G4-ração + antocianina + naringenina	59,50 ^a	-9,62	-24,75
30	G1-ração	67,33 ^A	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	82,83 ^A	-	-
	G3-ração + antocianina	56,33 ^a	+3,95	+17,91
	G4-ração + antocianina + naringenina	62,33 ^a	-5,29	+7,43

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Em cada tempo A difere de B pelo teste F (P< 0,05).

*Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett (P< 0,05) em cada tempo.

Quando se analisou a tabela 4 verificou-se que nenhuma diferença significativa, pelo teste F (P<0,05), ocorreu durante todo o período experimental.

Os resultados aqui apresentados evidenciam que as substâncias-teste não ocasionaram alterações significativas na atividade da AST, levando a crer que também não causaram danos relacionados ao aumento da atividade dessa enzima nos animais utilizados neste modelo experimental.

Os resultados referentes aos níveis médios da Gama – Glutamiltanspeptidase, no soro (γ -GT) e suas respectivas percentagens de variação encontram-se na tabela 5.

Avaliando-se a tabela 5 observou-se que durante todo o ensaio que as diferenças ocorridas na atividade dessa enzima não foram consideradas estatisticamente significativas.

Os resultados aqui obtidos indicam que as substâncias-teste não interferiram significativamente na atividade de γ -GT.

Tabela V
Valores médios de γ -GT, em U.I., e percentual de variação em relação aos grupos controle, em coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados aos 0, 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Grupo tratado	γ -GT (U.I.)	Variação % em relação a G1	Variação % em relação a G2
0	G1-ração	12,83 ^A	-	-
	G2-ração	11,33 ^A	-	-
	G3-ração	13,17 ^a	-	-
	G4-ração	11,67 ^a	-	-
15	G1-ração	13,33 ^A	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	11,83 ^A	-	-
	G3-ração + antocianina	12,83 ^a	-3,75	+8,45
	G4-ração + antocianina + naringenina	10,67 ^a	-19,85	-9,81
30	G1-ração	12,67 ^A	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	11,17 ^A	-	-
	G3-ração + antocianina	13,17 ^a	+3,95	+17,91
	G4-ração + antocianina + naringenina	12,00 ^a	-5,29	+7,43

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Em cada tempo A difere de B pelo teste F ($P < 0,05$).

*Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$) em cada tempo.

DISCUSSÃO

Proteínas Totais

Mais de 7% do plasma sanguíneo consiste de proteínas como albumina e globulinas. Outras proteínas em microquantidades são anticorpos, enzimas e certos tipos de hormônios. As globulinas são produzidas pelos linfócitos e pelas células plasmáticas. Essas proteínas são denominadas imunoglobulinas. As imunoglobulinas são classificadas em IgM, IgG, IgA, IgD e IgE, sendo IgG a mais abundante nos animais normais. A IgE é produzida pelos animais que estão enfrentando processos alérgicos diversos. Dessa forma, num processo alérgico ocorre aumento de proteína total no plasma, incrementado pela IgE (SWENSON, 1988).

A albumina plasmática, o fibrinogênio, parte das globulinas e a protrombina são formados no fígado. As globulinas, incluindo imunoglobulinas, são formadas nos linfonodos e em outras células do sistema reticuloendotelial do baço e da medula óssea. A síntese de proteínas plasmáticas é reduzida significativamente nas lesões hepáticas graves ou deficiências prolongadas de proteínas na dieta. Isso pode reduzir o fibrinogênio plasmático, resultando em aumento do tempo de protrombina e retardando o tempo de coagulação do sangue nos capilares. A pressão osmótica, produzida pelas proteínas plasmáticas, opõe-se à pressão hidrostática e, dessa forma, evita o excesso de passagem de água para os tecidos, o que pode causar edema (SWENSON, 1988).

Segundo MOTTA (2003), a hiperproteinemia pode significar desidratação, enfermidades monoclonais e enfermidades policlonais crônicas, dentre elas a cirrose hepática. Ainda, o mesmo, cita que a hipoproteinemia pode significar aumento do volume plasmático, perda renal de proteínas, perda de proteínas pela pele, gota e distúrbios da síntese protéica dentre elas enfermidade hepática não - virótica severa e a insuficiência da função hepatocelular na enfermidade hepática crônica.

Resultados indicando a não-toxicidade de flavonóides em relação aos níveis normais de proteínas plasmáticas também foram obtidos por LIMA (2000), que, ao avaliar os efeitos toxicológicos de alguns flavonóides (dentre eles a

quercetina) no nível de proteína total de coelhos saudáveis, verificou que tais substâncias não provocaram alterações consideráveis no metabolismo protéico desses animais.

Albumina

A albumina é a mais importante proteína plasmática e corresponde a cerca de 60% das proteínas plasmáticas totais, sendo que, por volta de 40% está presente no plasma e 60% no espaço extracelular.

O fígado produz 12 g de albumina/dia, representando 25% do total de proteínas sintetizadas pelo fígado e metade das proteínas secretadas. Entre as funções importantes da albumina está a capacidade de se ligar a várias substâncias, que incluem hormônios esteróides, bilirrubina e triptofano do plasma. Além disso, a albumina se liga a aproximadamente 10% do cobre plasmático. Uma variedade de drogas, incluindo sulfonamidas, penicilina G e aspirina, ligase à albumina, o que tem implicações farmacológicas. Acredita-se, também, que a albumina seja responsável por cerca de 75% a 80% da pressão osmótica do plasma (MURRAY *et al.*, 1994).

A síntese de albumina é afetada em uma série de moléstias, particularmente aquelas do fígado. O plasma de pacientes com doença do fígado frequentemente apresenta decréscimo da relação A:G (albumina: globulina) (MURRAY *et al.*, 1994).

A hipalbuminemia é promovida pela diminuição ou defeito da síntese devido ao dano hepatocelular, deficiência na ingestão de aminoácidos, aumento de perdas de albumina por doença e catabolismo induzido por estresse fisiológico (MOTTA, 2003).

Aminotransferases (ALT e AST)

As aminotransferases (ALT e AST) catalisam a transferência reversível de uma amina de um aminoácido para um α -cetoácido. Essas enzimas, geralmente, encaminham os grupos amina a de vários aminoácidos para o α -cetoglutarato, para a conversão em NH_4^+ (STRYER, 1996; LEHNIN-GER, 2000).

Essas enzimas estão presentes, em altas concentrações, no músculo, fígado e cérebro. A elevação da atividade das aminotransferases no sangue indica necrose ou moléstia, especialmente nesses tecidos (MURRAY *et al.*, 1994).

Segundo OCKNER (1993) a elevação dos níveis da ALT é relativamente específica da doença hepatobiliar. Apesar dos níveis de AST poderem estar aumentados nas doenças de outros órgãos valores mais de 10 vezes acima do limite superior de variação normal refletem habitualmente uma patologia hepática ou biliar. Os valores das aminotransferases são úteis para monitorizar a evolução da hepatopatia parenquimal aguda ou crônica.

A ALT é encontrada principalmente no citoplasma do hepatócito, enquanto 80% da AST esta presente na mitocôndria. Essa diferença tem auxiliado no diagnóstico e prognóstico de doenças hepáticas. Em dano hepatocelular leve a forma predominante no soro é a citoplasmática, enquanto em lesões graves há liberação da enzima mitocondrial, elevando a relação AST/ALT (MOTTA, 2003).

Em outro estudo de toxicidade aguda, LIMA (2000) constatou que alguns flavonóides (dentre eles a rutina) não alteraram significativamente a atividade de AST em coelhos machos albinos da raça Nova Zelândia.

Gama - Glutamyltranspeptidases (γ -GT)

A γ -GT é uma indicadora sensível das doenças hepáticas. Os níveis são freqüentemente elevados nas disfunções do

fígado, ocasionadas por alcoolismo. Essa enzima está presente no fígado, nos rins e no pâncreas e transfere ácido glutâmico C-terminal de um peptídeo para outros peptídeos ou L-aminoácidos (MURRAY *et al.*, 1994).

Segundo MOTTA (2003) aumentos na atividade da γ -GT podem significar, dentre outras, esteatose hepática (hepatites medicamentosas) ou a indução de aumento de sua atividade por determinados fármacos.

CONCLUSÕES

Pode-se concluir, então, que as substâncias testadas não ocasionaram efeitos adversos significativos no metabolismo hepático de coelhos saudáveis.

O fato de que, nesse experimento, alguns resultados não terem sido significativos, do ponto de vista estatístico, significa que foram promissores do ponto de vista biológico. Uma sugestão de trabalhos futuros é que se prolonguem por mais tempo os ensaios e que se testem doses mais elevadas.

REFERÊNCIAS

- BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. Introdução à química de alimentos. 2.ed. São Paulo: Varela, 1995. 223p.
- CRUIK, M.H.; RINGEL, B.L. Does diet or alcohol explain the French paradox? *Lancet*, v.344, p.1719-1723, 1994.
- DRENSKA, D.; BANTUTOVA, I.; OVCHAROV, R. Anti-convulsant effect of anthocyanins and antioxidants. *Farmatsiya*, v.39, p.454-457, 1989.
- FRAGA, C.G.; MARTINO, V.S.; FERRARO, G.E.; COUSSIO, J.D.; BOVERIS, A. Flavonoids as antioxidants evaluated by in vitro and in situ liver chemiluminescence. *Biochem. Pharmacol.*, v.36, p.717-720, 1987.
- FREUND, P.R.; WASHAM, C.J.; MAGGION, M. Natural color for use in foods. *Cereal Foods World*, v.33, n.7, p.553-559, 1988.
- HERTOG, M.G.L.; HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B.; KROMHOUT, D. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands. *Nutr. Cancer*, v.20, p.21-29, 1993.
- HIRONO, I.; UENO, I.; HOSAKA, S.; TAKANASHI, H.; MATSUSHIMA, T.; SUGIMURA, T.; NATORI, S. Carcinogenicity examination of quercetin and rutin in ACl rats. *Cancer Lett.*, v.13, p.15-21, 1981.
- JAEGER, A.; WALTI, M.; NEFTEL, K. Side effects of flavonoids in medical practice. In: *Plant flavonoids in: biology and medicine II: biochemical, cellular, and medical properties*. New York, USA: Alan R. Liss, 1988. p.379-394.
- KUHNAU, J. The flavonoids. A class of semi-essential food components: Their

- role in human nutrition. *Wld. Rev. Nutr. Diet.*, v.24, p.117-191, 1976.
- LEHNINGER, A.L. Princípios de bioquímica. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 2000. 839p.
- LIMA, L.R.P. Efeitos farmacológico, toxicológico e mecanismo de ação dos flavonóides e corantes naturais no metabolismo lipídico de coelhos. Viçosa, MG: UFV, 2000. 115p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- MOTTA, V.T. Bioquímica Clínica para o Laboratório: princípios e interpretações. 4 ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau; São Paulo: Robe Editorial, 2003. 419 p.
- MURRAY, R.K.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. Harper: bioquímica. 7.ed. São Paulo: Atheneu Editora São Paulo, 1994. 763p.
- NAGEM, T.J.; PEREIRA, W.L.; OLIVEIRA, T.T.; PINTO, A.S.; OLIVEIRA, M.G.A.; STRINGHETA, P.C. Efeitos de naringina e dos corantes naturais antocianina e carmin no metabolismo lipídico. *Rev. Bras. Farm.*, v.80, p.25- 28, 1999.
- OCKNER, R. K. Doenças do Fígado, da Vesícula Biliar e dos Ductos Biliares. In WYNGAARDEN, J.B. Tratado de Medicina Interna. 19 ed V 1. Rio de Janeiro : Editora Guanabara Koogan, 1993. 1214p.
- OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; MIRANDA, L.C.G.; PAULA, V.F.; TEIXEIRA, M.A. Inhibitory action on aldose reductase by soybean flavonoids. *J. Braz. Chem. Soc.*, v.8, n.3, p.211-213, 1997.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHORN, S.E. Biologia vegetal. 5.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1996. 728p.
- RATTY, A.K.; DAS, N.P. Effects of flavonoids on nonenzymic lipid peroxidation: Structure activity relationship. *Biochem. Med. Metabol. Biol.*, v.39, p.69-79, 1988.
- RIBEIRO, J.N. Efeitos de Própolis, Antocianina e Naringenina em Coelhos Normais e Diabéticos. Viçosa, MG: UFV, 2001. 111p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica)- Universidade Federal de Viçosa, 2001.
- SWENSON, M.J. Dukes – Fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 799p.
- STRYER, L. Bioquímica. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 1000p.
- TAMURA, H.; YAMAGAMI, A. Antioxidative activity of monoacylated anthocyanins isolated from muscat bailey a grape. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v.42, n.8, p.1612-1615, 1994.
- TIMBERLAKE, C.F.; BRIDLE, P. Anthocyanins. In: WAFORD, J. (Ed.). *Developments in food colours*. London: Applied Science Publishers, 1980. p.115-149.
- TZENG, S.H.; KO, W.C.; KO, F.N.; TENG, C.M. Inhibition of platelet aggregation by some flavonoids. *Thromb. Res.*, v.64, p.91-100, 1991.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Dr. Davilson Bragim Ferreira Jr.
Universidade Federal de Viçosa - Dep. Bioquímica
CEP. 36570-000 - Viçosa - MG

33º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 6º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

04 a 08 de junho de 2006

Local:

Estação Embratel Convention Center - Curitiba - PR

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

PRÊMIO DOLES DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

- 1) O Prêmio Doles de Bioquímica Clínica é promovido pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - SBAC, com o patrocínio da DOLES REAGENTES;
- 2) O Prêmio será no valor correspondente a R\$ 3.000,00 (três mil reais), além de diploma alusivo;
- 3) O Prêmio será entregue na solenidade programada pela SBAC nos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas - CBAC.

II - DOS OBJETIVOS

O Prêmio Doles de Bioquímica Clínica tem por objetivos;

- 1) Estimular o desenvolvimento de pesquisas na área de Bioquímica Clínica no País; e
- 2) Premiar o melhor trabalho de bioquímica clínica inscrito e apresentado no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, com vistas a melhoria técnica do Laboratório Clínico.

III - DA PARTICIPAÇÃO

- 1) Poderão concorrer ao Prêmio, todos os trabalhos inscritos e apresentados na sessão de Temas Livres dos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas;
- 2) Para concorrer ao Prêmio, os autores deverão remeter à Secretaria da SBAC, até 30 dias antes do Congresso, 05 (cinco) cópias em papel do trabalho original completo e uma cópia em disquete ou CD (linguagem word) e uma cópia em disquete (linguagem Word for Windows), atendendo às normas de publicação da Revista Brasileira de Análises Clínicas contendo: introdução (com objetivo definido do trabalho) material e métodos, resultados, discussão, conclusão, bibliografia, resumo em português, summary em inglês, palavras chaves (unitermos) e key words (uniterms).
- 3) Os trabalhos concorrentes deverão ser escritos em português e ser originais, ainda não publicados nem comprometidos para publicação em qualquer Revista Científica da Especialidade;
- 4) O trabalho premiado será obrigatoriamente publicado na íntegra, com exclusividade, na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 5) Os demais trabalhos selecionados pela Comissão Julgadora para concorrer ao Prêmio Doles de Bioquímica Clínica poderão ser publicados na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 6) O não atendimento aos itens 1 à 3 desqualifica o trabalho e/ou o recebimento do Prêmio.

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

- 1) A Comissão Julgadora será composta de pelo menos 05 (cinco) membros nomeados pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, sendo um o Presidente;
- 2) A composição da Comissão Julgadora será divulgada pela SBAC nos Programas oficiais dos CBAC;
- 3) A Comissão Julgadora selecionará os 03 (três) melhores trabalhos apresentados, outorgando a um deles o Prêmio Doles de Bioquímica Clínica, e aos outros 02 (dois), será outorgado um diploma de Menção Honrosa;
- 4) A decisão da Comissão Julgadora é soberana e irrecorrível.

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

- 1) O Prêmio Doles de Bioquímica Clínica é indivisível e será conferido a apenas um trabalho, ficando a inteiro critério dos autores seu eventual rateio;
- 2) O Trabalho concorrente ao Prêmio Doles, obrigatoriamente, deve ser apresentado na sessão de Temas Livres por um dos autores regularmente inscrito no Congresso;
- 3) Caso a Comissão Julgadora dos Prêmios decidir não premiar nenhum dos trabalhos apresentados para concorrer ao prêmio em virtude de não atingir os objetivos de prêmios, o valor deste será revertido para pagamento dos anúncios da empresa promotora publicados na RBAC, no SBAC Jornal e divulgados no site da SBAC.
- 4) Os casos omissos serão resolvidos pela Diretoria da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, ouvida a Comissão Julgadora.

Rio de Janeiro, 30 de dezembro de 2004.

Dr. Ulisses Tuma
Presidente

Informações:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio Doles de Bioquímica Clínica
Rua Vicente Licínio, 95 • Tijuca • 20270-902 • Rio de Janeiro • RJ

Índice de concordância entre dois diferentes observadores na revisão de esfregaços citológicos cérvico-vaginais anteriormente diagnosticados como ASC-US: utilização da técnica convencional de Papanicolaou*

Indices of concordance between two different observers in reviews of cervical/vaginal cytologic smears after diagnostics of ASC-US: utilization of the conventional Papanicolaou test

Rodrigo de Almeida Vaucher¹; Fábio Roberto dos Santos¹ & Vera Regina Andrade Vargas²

RESUMO - Atualmente, os problemas encontrados no diagnóstico de células escamosas atípicas de significado indeterminado são devido à falta de uniformização dos critérios citológicos utilizados por diferentes observadores em diferentes laboratórios, gerando altas taxas de discrepância entre seus resultados. O objetivo deste trabalho foi revisar os critérios morfológicos para ASC-US e comparar os resultados encontrados por dois diferentes observadores em 45 esfregaços, previamente diagnosticados por dois farmacêuticos bioquímicos especialistas em citologia clínica. Foram revisados 45 esfregaços com ASC-US. Destes, 35 esfregaços tiveram o diagnóstico final conclusivo para ASC-US, confirmado pelos observadores (Índice de concordância de 77,8%); três esfregaços foram considerados pelos observadores apenas, como processos inflamatórios inespecíficos (6,7%). Sete esfregaços apresentaram diagnósticos diferentes, considerado somente por um dos observadores. As discrepâncias entre os observadores chegaram a 15,5%. Nenhum dos observadores diagnosticou algum esfregaço como lesão intra-epitelial de baixo grau ou lesão intra-epitelial de alto grau. A experiência do observador é, e continuará sendo, um dos fatores mais importantes para o diagnóstico seguro de esfregaços classificados como ASC-US, em laboratórios de citologia clínica.

PALAVRAS-CHAVE - Células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US); citologia; exame de Papanicolaou.

SUMMARY - Actuality, the problems in the diagnostic of the atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) is device the lack of uniformity of the cytological criteria utilizes for the different observers in different cytologic laboratory, produce high rate of divergence results. The aim of this study was to review the morphologic criteria for ASC-US and to compare the results for the two different observers in 45 cases in advance diagnostic for two pharmacists-biochemist specialists in clinical cytologic. Were reviewed 45 smears with ASC-US. These, 35 smears had ASC-US, confirmed for the both observers (concordance indices of 77,8%), 3 smears had only inflammation for a both observers (6,7%). Seven smears had different diagnostic, and was considering for the one observer. The divergence results between observers were 15,5%. Neither of the observers had diagnostic of low grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) or high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL). The experience of the observer is, and will be the most important for the save diagnostic of ASC-US in cytologic laboratory.

KEYWORDS - atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US); cytology; Papanicolaou smears.

INTRODUÇÃO

O diagnóstico precoce do carcinoma cervical é realizado pelo rastreamento populacional com exame citopatológico de Papanicolaou. Desde a sua introdução, nos Estados Unidos, por volta de 1940, a incidência e mortalidade por carcinoma cervical têm sido reduzidas em mais de 70% dos casos²⁴. A recomendação para a detecção precoce de carcinoma de cérvix é a realização anual do exame citopatológico. Atualmente, em todo o mundo, 80% das mulheres que morrem de carcinoma de cérvix, nunca realizaram ou estão, pelo menos, há mais de 5 anos sem realizar esse tipo de exame preventivo de câncer⁷.

No Brasil, índices publicados pelo Ministério da Saúde indicam que aproximadamente seis milhões de mulheres entre 35 e 49 anos nunca realizaram o exame de Papanicolaou, sendo levadas ao óbito devido a essa patologia. Entretanto, vem ocorrendo uma diminuição ano a ano, gradativamente, desses índices, graças às campanhas de prevenção realizadas junto à população e a melhoria do treinamento dos profissionais que realizam os exames em laboratórios^{12, 13}.

No entanto, apesar do exame citopatológico ser de extrema importância e de grande significado diagnóstico e clínico, existe uma preocupação intensa na veracidade das informações do mesmo, ou seja, está cada vez mais exigindo-se o controle da qualidade dos exames realizados e do profissional responsável por estes resultados, para que não ocorram discrepâncias entre os laudos e, principalmente, para que haja uma preocupação na padronização das análises³. Um dos pontos de controvérsias entre os citologistas está na categoria de "células escamosas atípicas de significado indeterminado" (ASC-US, *Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance*), as quais se caracterizam por anormalidades celulares mais intensas que reações inflamatórias reacionais, mas que são insuficientes para caracterizar um diagnóstico definitivo de lesão intra-epitelial escamosa (SIL, *Squamous Intraepithelial Lesion*)¹¹. Por este motivo, ASC-US é utilizado para indicar células escamosas que possuem critérios citológicos mais acentuados que aqueles encontrados em condições inflamatórias reativas, porém faltam características para um diagnóstico de lesão pré-neoplásicas ou neoplásicas¹⁹. Esses critérios para interpretação do diagnóstico de ASC-US envolvem subjetividade

Recebido em 29/04/2005

Aprovado em 14/11/2005

*Trabalho de Conclusão do II Curso de Citologia Clínica da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas Regional Sul (SBAC-RS) em colaboração com o Laboratório Osvaldo Cruz de Santo Ângelo, RS.

¹Farmacêutico Bioquímico, aluno do II Curso Especialização em Citologia Clínica pela SBAC-RS; ²Farmacêutica Bioquímica, Mestre em Geriatria e Gerontologia, Especialista em Citologia Clínica, docente do curso de Especialização em Citologia Clínica da SBAC-RS e da Faculdade de Farmácia da Universidade Regional do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Santo Ângelo, RS (URI).

de, conduzindo a baixa reprodutibilidade interpessoal e contribuindo para ampla variação das taxas reportadas por diferentes observadores e laboratórios⁶.

Atualmente, o relato do diagnóstico citológico é realizado segundo o Sistema Bethesda (*The Bethesda System* – TBS). Nesse sistema foi incluída essa categoria de "células escamosas atípicas de significado indeterminado" (ASC-US)⁴, que é o foco deste estudo. A partir de 2001, depois de realizada a revisão do TBS, essa categoria diagnóstica foi subdividida em: células escamosas atípicas que podem apresentar alterações de significado indeterminado (ASC-US) e alterações celulares que não excluem lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (ASC-H)²². Além disso, no TBS de 2001 ainda foram incluídos o diagnóstico descritivo e a avaliação da amostra.

Existe um consenso que o diagnóstico de ASC-US não deve representar mais que 5%, com uma taxa média de 2,8%, de todos as amostras encaminhadas a um serviço de citopatologia, sendo estabelecido ainda que estes casos não devem exceder duas a três vezes o número de espécimes correspondentes a lesões intra-epitelial de baixo grau (LSIL)^{2,5,15}. De acordo com o Sistema Bethesda, existem alguns critérios morfológicos convencionais que são adotados para o diagnóstico de ASC-US, a saber: aumento nuclear de duas a três vezes o tamanho normal do núcleo de uma célula escamosa intermediária, com um discreto aumento da relação núcleo/citoplasma, variação no tamanho e forma nuclear e binucleação podem ser observados; hipercromasia discreta pode estar presente, mas a cromatina mantém igualmente a distribuição sem granações, membranas nucleares usualmente são suaves e regulares, algumas irregularidades discretas podem ser observadas (Figura 1)²¹.

Assim, as lesões que são diagnosticadas em citologia de esfregaços cérvico-vaginais e classificadas como ASC-US devem levar em consideração as alterações celulares morfológicas definidas pelo Sistema Bethesda, sendo de suma importância na detecção precoce de um futuro câncer e não devem ser confundidas com as alterações celulares morfológicas encontradas nas LSIL. Portanto, os critérios para diferenciação entre os dois estágios devem ser bem definidos entre os citologistas do laboratório, a fim de evitar resultados falso-positivos, acarretando tratamento desnecessário à paciente. O exame criterioso do esfregaço citológico por profissional especializado seria uma das maneiras mais simples de minimizar esse tipo de situação, além de diminuir a variação nos resultados diagnósticos realizados por diferentes laboratórios. Por esse motivo, o treinamento e a experiência do observador é muito importante, e ajuda a diminuir os erros de triagem dos exames periódicos para a prevenção do câncer de colo uterino, que tem sido a melhor estratégia de saúde pública para a detecção de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas¹⁶.

Dada a importância da citologia oncológica e a adequada utilização dos critérios morfológicos para a definição de cada tipo de lesão apresentada pelos pacientes, o objetivo do presente trabalho foi reavaliar os critérios morfológicos para ASC-US e comparar os resultados dos diagnósticos encontrados por dois diferentes observadores para 45 esfregaços, previamente diagnosticados nessa categoria pelo Laboratório Osvaldo Cruz da cidade de Santo Ângelo – RS (Brasil), utilizando para isso análise estatística. Assim, o número de diagnósticos citológicos conclusivos para ASC-US, que é geralmente influenciado pela rigidez na adoção de critérios morfológicos e pelo grau de experiência na interpretação dos espécimes citológicos, foi testado entre dois observadores, a fim de identificar através do teste

Kappa o índice de discrepâncias existentes entre eles, bem como avaliar o índice de concordância dos mesmos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Quarenta e cinco esfregaços citológicos com resultados de "células escamosas atípicas de significado indeterminado" (ASC-US), segundo os critérios de classificação do Sistema Bethesda 2001, foram incluídos e reavaliados por dois alunos do II Curso de Especialização em Citologia Clínica da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – Regional Sul (SBAC-RS). Esses resultados de ASC-US foram diagnosticados entre os 5961 exames (Tabela 1) realizados no Laboratório Osvaldo Cruz – Santo Ângelo (RS), no período de 1º de agosto de 2002 a 31 de março de 2003. Foram excluídos do estudo os esfregaços diagnosticados, no mesmo período, que apresentaram resultados negativos para lesão intra-epitelial ou malignidade, lesão intra-epitelial de baixo grau (LSIL) e lesão intra-epitelial de alto grau (HSIL). Esses exames foram previamente diagnosticados por dois citologistas especialistas em Citologia Clínica. Os esfregaços citológicos foram identificados por números e divididos em dois grupos A e B. Cada aluno avaliou um grupo diferente e após trocaram de grupo sem que um soubesse o diagnóstico encontrado pelo outro.

Após as avaliações dos esfregaços, esses foram classificados de acordo com os diagnósticos encontrados pelos alunos. Para que os esfregaços fossem considerados como categoria de ASC-US (Figura 1), as alterações citológicas encontradas deveriam ser mais evidentes que as encontradas em processos reativos, mas que ainda são pouco significativas para um diagnóstico seguro de lesão intra-epitelial escamosa. Assim, foram considerados, para determinar o diagnóstico final de cada esfregaço, os critérios morfológicos convencionais adotados e recomendados pelo Sistema Bethesda 2001, a saber:

1. Aumento nuclear de duas a três vezes o tamanho normal do núcleo de uma célula escamosa intermediária, com um discreto aumento da relação núcleo/citoplasma.
2. Variação no tamanho e forma nuclear e binucleação podem ser observadas.
3. Hipercromasia discreta pode estar presente, mas a cromatina mantém igualmente a distribuição sem granações.
4. Membranas nucleares usualmente são suaves e regulares, algumas irregularidades discretas podem ser observadas²¹.

Também foram incluídos nesta categoria os esfregaços que apresentavam metaplasia escamosa atípica, paraceratose atípica ou disceratose e alterações sugestivas, porém não definitivas de infecções pelo Papilomavírus Humano (HPV).

Para realização da análise estatística dos resultados foi utilizado o Teste Kappa, para determinar a concordância entre os observadores.

RESULTADOS

De um total de 45 esfregaços citológicos previamente diagnosticados como ASC-US pelo Laboratório Osvaldo Cruz, apenas 35 tiveram o diagnóstico final conclusivo para ASC-US, confirmado por ambos os alunos (Índice de concordância entre alunos de 77,8%) (Tabela 1).

Tabela I
Frequência das categorias diagnósticas encontradas nos 5961 exames citológicos realizados pelo Laboratório Osvaldo Cruz – Santo Ângelo (RS).

Categorias diagnósticas	Frequência	
	Número de esfregaços	%
ASC-US/AG	88	1,47
LSIL	80	1,34
HSIL	31	0,51
Carcinoma escamoso	6	0,10
Adenocarcinoma	5	0,08
Negativo para lesão intra-epitelial ou malignidade	5751	96,5
Total	5961	100%

ASC-US: células escamosas atípicas de significado indeterminado; AG células glandulares atípicas; LSIL: lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau; HSIL: lesão intra-epitelial escamosa de alto grau.

Três esfregaços das 45 preparações não apresentaram diagnósticos finais conclusivos para ASC-US, e ambos os alunos consideraram os esfregaços apenas como processos inflamatórios inespecíficos (6,7%) (Tabela 2).

Tabela II
Avaliação dos esfregaços realizada pelos dois observadores.

Casos considerados negativos para ASC-US	3 (6,7%)
Casos considerados como ASC-US	35 (77,8%)
Casos com discrepâncias	7 (15,5%)
Total esfregaços citológicos	45 (100,0%)

Sete esfregaços das 45 preparações apresentaram diagnósticos finais diferentes, consideradas somente por um dos alunos. As discrepâncias entre os alunos chegaram a 15,5% (Tabela 2). O índice Kappa para esta discrepância é de 0,39, podendo a concordância entre os alunos ser considerada como moderada do ponto de vista estatístico. Nenhum dos dois alunos diagnosticou um dos 45 esfregaços como lesão intra-epitelial de baixo ou alto grau ou alto grau (LSIL ou HSIL).

Em relação aos critérios morfológicos para diagnóstico de ASC-US, não foram observadas grandes discrepâncias nos diagnósticos realizados pelos alunos, uma vez que o índice de concordância entre os alunos foi elevado. Mas, observou-se discrepância quando foram levados em consideração outros critérios não clássicos que também se classificam na categoria de ASC-US (células metaplásicas escamosas e paraceratose atípica ou disceratose), além dos processos inflamatórios (Tabela 3).

Tabela III
Discrepâncias em relação a ASC-US sobre células metaplásicas, paraceratose e inflamação.

Discrepâncias	Observador 1		Observador 2	
	n	%	n	%
Metaplasia	2	28,6	3	42,8
Paraceratose	1	14,2	2	28,6
Inflamação	4	57,2	2	28,6
Total	7	100	7	100

n = número de casos com discrepância entre dois observadores.

Em relação às discrepâncias entre os observadores, levando-se em consideração os processos inflamatórios, apenas um dos observadores diagnosticou os casos como sendo processo inflamatório, identificando o agente etiológico ou apenas reportaram o resultado como processos inflamatórios inespecíficos (Tabela 4).

Tabela IV
Discrepâncias em relação aos processos inflamatórios.

Discrepâncias	Observador 1		Observador 2	
	n	%	n	%
Inflamação				
<i>Candida sp.</i>	1	25	1	50
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	25	0	0
Inflamações inespecíficas	2	50	1	50
Total	4	100	2	100

n = número de casos com discrepância entre dois observadores

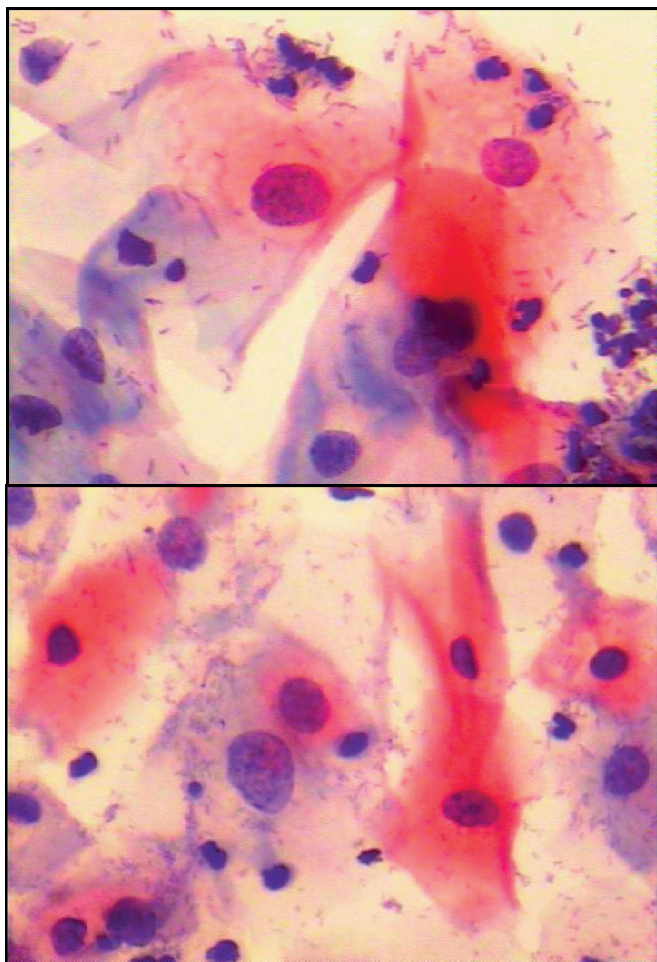
Finalmente, reportamos a frequência final do diagnóstico encontrado entre os dois observadores, levando-se em consideração os grupos que foram classificados de acordo com a faixa etária das mulheres que tiveram os seus esfregaços revisados no estudo: Grupo A (17 a 25 anos), Grupo B (26 a 35 anos), Grupo C (36 a 45 anos) e Grupo D (46 a 54 anos) (Tabela 5).

Tabela V
Frequência dos diagnósticos encontrada entre os dois diferentes observadores em consideração aos grupos de faixa etária das mulheres: Grupo A (17 a 25 anos), Grupo B (26 a 35 anos), Grupo C (36 a 45 anos) e Grupo D (46 a 54 anos).

	Grupo A		Grupo B		Grupo C		Grupo D		Total
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Diagnóstico									
Inflamatório	3/0	6,7/0	2/3	4,4/6,7	3/4	6,7/8,9	2/3	4,4/6,7	10/10
ASC-US	6/9	13,3/20	9/8	20/17,7	15/12	33,3/26,7	5/6	11,2/13,3	35/35
Total									45/45

n = número de casos com discrepância entre dois observadores

Obs 1 / Obs 2 = Observador 1 e observador 2



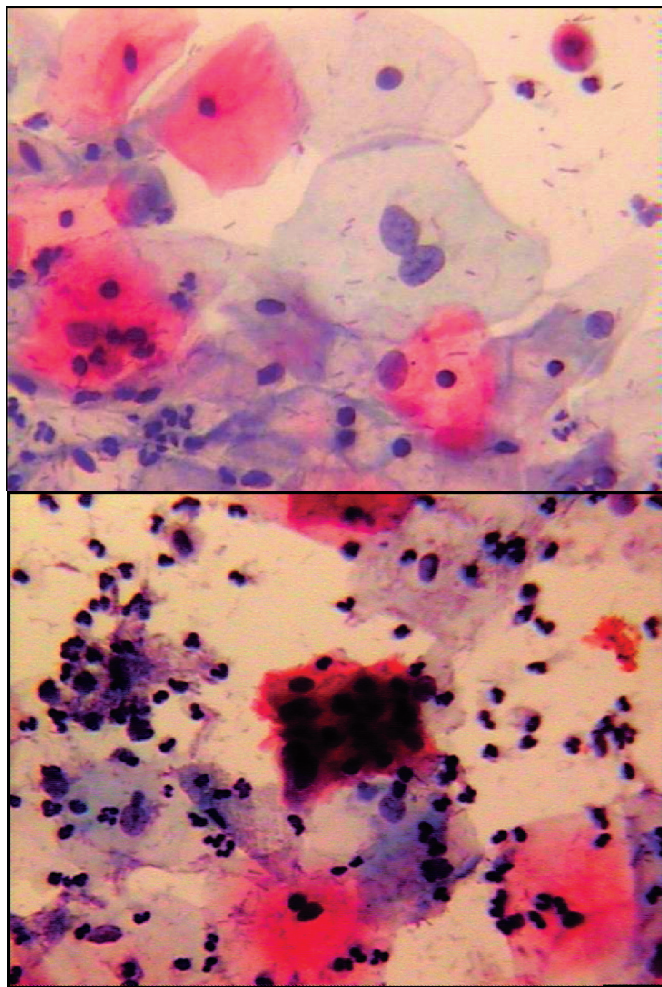


Figura 1. Células escamosas em uma preparação citológica convencional apresentando atipias de significado indeterminado (ASC-US).

Fonte: Dados da pesquisa, Laboratório Osvaldo Cruz, Santo Ângelo, RS.

DISCUSSÃO

Como mencionado anteriormente, existe um consenso adotado pelos citologistas para delimitação do diagnóstico final para ASC-US. Entretanto, ainda existe controvérsia no diagnóstico cérvico-vaginal dessa categoria citológica, gerando discordância entre os citologistas, devido ao desconhecimento por parte de muitos laboratórios citológicos, das possibilidades diagnósticas recomendadas pelo Sistema Bethesda²⁵. Além disso, ainda existem as chamadas discrepâncias que são comumente observadas em relação ao diagnóstico de ASC-US que variam de acordo com os conhecimentos individuais do citologista, podendo girar em torno de 50%⁹. Apesar dos critérios citológicos já terem sido estabelecidos¹⁹, sua aplicação é subjetiva e este fato aumenta as discrepâncias reportadas por estes diferentes laboratórios, estimadas desde 0,2% até 9%¹⁴.

As discrepâncias interobservadores neste estudo foram de 22,2%. Do ponto de vista estatístico podem ser consideradas como moderadas, uma vez que as publicadas na literatura são semelhantes²³. É difícil encontrar uma razão para estas variações e para este índice de discrepâncias. São conhecidas variações na interpretação das trocas por um mesmo observador, podendo influir circunstâncias como: a experiência pessoal, informações clínicas proporcionadas

ao citologistas e o diagnóstico estabelecido pelo laboratório para um exame anteriormente realizado no mesmo paciente²⁰. Segundo Jones, 1995, esta variabilidade pode ser motivada pelo método de rastreabilidade executado, uma vez que para reportar o diagnóstico final de ASC-US se faz necessária a observação dos critérios morfológicos das alterações celulares no citoplasma e núcleo das células presentes nos esfregaços. As revisões dos esfregaços foram de grande importância, pois ajudaram a identificar as discrepâncias entre os dois observadores no estudo, por que foram detectadas células metaplásicas, pelos observadores, com pouca frequência nos esfregaços (28,6% observador 1 e 42,8% observador 2). Na literatura, tem sido descrito um aumento no aparecimento de casos de lesões intra-epiteliais de baixo e alto grau (LSIL e HSIL) nos casos de ASCUS que apresentam células metaplásicas em especial, células metaplásicas atípicas⁸.

Entretanto, foram investigadas as discrepâncias entre os dois observadores e foram detectadas, além das variações em células metaplásicas, variações relacionadas a paraceratose (14,2% observador 1 e 28,6% observador 2), indicando que ambos identificaram esse importante critério, embora diagnosticaram em esfregaços diferentes. Não foram encontrados na literatura dados comparativos da porcentagem de esfregaços que apresentam paraceratose e que sejam classificados como critérios de ASC-US.

Em relação às discrepâncias entre dois observadores, chama atenção o fato de que ambos detectaram agentes etiológicos causadores de inflamação nos esfregaços com *Candida sp.* (25% observador 1 e 50% observador 2) ou *Gardnerella vaginalis* (25% observador 2), reportando como diagnóstico final apenas processo inflamatório. Em 50% dos casos inflamatórios reportados o diagnóstico final foi de processos inflamatórios inespecíficos. Esses resultados foram semelhantes aos encontrados na literatura mas, somente, quanto aos agentes etiológicos que, segundo Alanen *et al.*, 1998, podem provocar alterações inflamatórias intensas no colo uterino, induzindo os citologista a reportarem resultados finais falso-positivos para ASC-US. Não encontrou-se na literatura, nenhum estudo para ASC-US que apresentasse percentagens de processos inflamatórios parecidas com as nossas, devido principalmente ao pequeno número de esfregaços com discrepância observados (7 casos) com diagnóstico final de processos inflamatórios, nos quais não detectou-se significância estatística.

Por este motivo, a revisão dos esfregaços foi considerada satisfatória, pois unificou os critérios entre os observadores. Tentou-se verificar ainda a existência de alguma possibilidade de associação dessa discrepância com a idade das pacientes. Para isso, avaliamos a frequência final do diagnóstico encontrado entre os dois observadores, levando-se em consideração os grupos que foram classificados de acordo com a faixa etária. Os diagnósticos encontrados foram: (6,7% observador 1 e 0% observador 2 no grupo A), (4,4% observador 1 e 6,7% observador 2 no grupo B), (6,7% observador 1 e 8,9% observador 2 no grupo C) e (4,4% observador 1 e 6,7% observador 2 no grupo D) para esfregaços inflamatórios e (13,3% observador 1 e 20% observador 2 no grupo A), (20% observador 1 e 17,7% observador 2 no grupo B), (33,3% observador 1 e 26,7% observador 2 no grupo C) e (11,2% observador 1 e 13,3% observador 2 no grupo D) para esfregaços diagnosticados como ASC-US. Existem muitos trabalhos que vêm sendo publicados, descrevendo o seguimento para ASC-US em mulheres pós-menopausa, já que estas apresentam maior incidência de lesões intra-epiteliais escamosas (SIL). Nestes, ainda não foi evidenciada

da uma correlação entre a idade e o aumento no número de discrepâncias nos esfregaços diagnosticados como ASC-US mas, sim, um aumento do número de casos diagnosticados como ASC-US¹⁷. Nesse estudo, não parece existir relação das discrepâncias com a idade das mulheres, sendo assim não existe grandes variações dos resultados encontrados entre os observadores para mulheres pré e pós-menopausa.

Portanto, dos 45 esfregaços analisados pode-se constatar que ocorreu predomínio absoluto de resultados para ASC-US em 77,8% dos esfregaços diagnosticados por ambos observadores, resultados que, comparados com os diagnósticos liberados pelo Laboratório Osvaldo Cruz, assemelham-se inteiramente. Esse resultado indica uma boa concordância dos alunos, entre si mesmos e com o laboratório, sendo esta também relatada em trabalhos publicados de controle da qualidade para laboratórios citológicos que giram em torno 80%^{26,10,18}. Já, para os esfregaços citológicos com processos metaplásicos e inflamatórios, pode-se verificar diferentes resultados encontrados em relação aos laudos liberados pelo laboratório.

CONCLUSÕES

- Em relação aos critérios morfológicos para diagnóstico de ASC-US não foram observadas grandes discrepâncias nos diagnósticos realizados pelos alunos, uma vez que o índice de concordância entre os alunos foi elevado.
- Observou-se discrepância quando foram levados em consideração outros critérios não clássicos que também se classificam na categoria de ASC-US (células metaplásicas escamosas e paraceratose atípica ou disceratose), além dos processos inflamatórios.
- Comparando os resultados dos diagnósticos encontrados pelos dois observadores para 45 esfregaços, encontramos:
 - 35 esfregaços tiveram o diagnóstico final conclusivo para ASC-US, confirmado por ambos (Índice de concordância entre alunos de 77,8%).
 - 3 esfregaços foram considerados por ambos, apenas como processos inflamatórios inespecíficos (6,7%) e sete esfregaços apresentaram diagnósticos finais diferentes, consideradas somente por um dos observadores.
 - A discrepância entre os alunos chegou a 15,5%. O índice Kappa para esta discrepância é de 0,39.
- Dessa maneira, ficou demonstrado que a experiência do observador é, e continuará sendo, um dos fatores mais importantes para o diagnóstico seguro de esfregaços classificados na categoria de "células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US)", em laboratórios de citologia clínica, como os relatados até o presente momento na literatura.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em três esfregaços das 45 preparações não houve concordância no diagnóstico final conclusivo para ASC-US e, ambos os alunos consideraram os esfregaços apenas como processos inflamatórios inespecíficos (6,7%). Estes casos deverão ser revisados pelos citologistas, uma vez que foi observada discrepância entre os diagnósticos dos alunos.

AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos ao Laboratório Osvaldo Cruz, Santo Ângelo, RS, por ter cedido os esfregaços que foram utilizados no presente estudo. Agradecemos a SBAC-RS pela re-

alização do curso de especialização. Aos nossos pais, namoradas, amigos, colegas e funcionários da SBAC-RS pelo companheirismo no decorrer do curso.

REFERÊNCIAS

1. Alanen, K.W., Elit, L.M., Molinaro, P.A., Mclachin, C.M. Assessment of cytologic follow-up as the recommended management for patients with atypical squamous cells of undetermined significance or low grade squamous intraepithelial lesions. *Cancer (Cancer Cytopathol.)*, 84: 5-10, 1998.
2. Bonfiglio, T.A. Atypical squamous cells of undetermined significance. *Cancer (Cancer Cytopathology)*, 9: 125-127, 2002.
3. Bonfiglio, T.A., Brozan, Y.S. *Gynecologic cytopathology*. I. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, p.73-78, 1997.
4. Bronder, S. From the National Institutes of Health. Rapid communication: the Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses - report of the 1991 Bethesda Workshop. *JAMA*, 267:1892, 1992.
5. Collins, L.C., Wang, H.H., Abu-Jawdeh, G.M. Qualifiers of atypical squamous cells of undetermined significance help in patient management. *Mod. Pathol.* V.9, p.677-681, 1996.
6. Davey, D.D. et al. Atypical squamous cells of undetermined significance. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, v. 120, p.440-404, 1996.
7. DeMay, R.M. Toward a practice standard. In: *The art and science of cytopathology*. Chicago: ASCP press, 142: 146-147, 1996.
8. Dvorak, K.A., Finnemore, M., Maksin, J.A. Histologic correlation with ASCUS and LSIL cytologic diagnoses. An argument to ensure ASCUS follow-up that is as aggressive as that for LSIL. *Dian. Cytopathol.* 21: 292-295, 1999.
9. Dudding, N. Rapid rescreen: a viable alternative to 1:10? *Diagn cytopathol.* 24: 219-221, 2001.
10. Fabbris, E., Bucchi, L., Folicaldi, S., Amadori, A., Ghidoni, D., Medri, M., Bondi, A. Analysis of the intralaboratory diagnostic variability in the Imola cervical screening program. *Pathologica*, 90: 127-132, 1998.
11. Howell, L.P., Davis, R.L. Follow-up of Papanicolaou smears diagnosed as atypical squamous cells of undetermined significance. *Diagn Cytopathol.* 14: 20-24, 1996.
12. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA) - MINISTÉRIO DA SAÚDE. Inca Prevê Mais de 300 Mil Casos Novos de Câncer em 2001. [Capturado em 2001 Jun 20]. Disponível em URL: <http://www.inca.gov.br/>
13. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA) - MINISTÉRIO DA SAÚDE. Câncer do colo do útero. [capturado em 2002 janeiro 07]. Disponível em url: www.inca.org.br/cancer
14. Jcskevicius, R., Zou K.H., Cibas, E.S. An analysis of factors that influence the ASCUS/SIL ratio of pathologists. *Am. J. Clin. Pathol.* 16(3): 331-335, 2001.
15. Jones, H.W. Impact of Bethesda System. *Cancer*. V.76(suppl), p.1914-1918, 1995.
16. Jordão, A.V., Ruggeri, L.S., Chiucheta, G.I.R., PivA, S., Consolaro, M.E.L. Application of non-classical morphological criteria in the cytological diagnosis of human papillomavirus. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v.39, p.81-89, 2003.
17. Keating, J.T., Wang, H.H. Significance of a diagnosis of ASCUS for Papanicolaou smears in premenopausal and postmenopausal women. *Cancer*. 93: 100-105, 2001.
18. Keenlyside, R.A., Collins, C.L., Hancock, J.S., et al. Do proficiency test result correlate with the work performance of screeners who screen Papanicolaou smears? *Am. J. Clin Pathol.* 112: 769-776, 1999.
19. Kline, T.S., Nguyen, G.K. The Bethesda System - with commentary. In: *Critical issues in cytopathology*. Nova York: Igaku-Shoin. p.11-41.1996.
20. Krieger, P. A., Cohen, T., Naryshkin, S. A practical guide to Papanicolaou smear rescreens - How many slides must be reevaluated to make a statistically valid assessment of screening performance? *Cancer (Cancer Cytopathol.)*, 84: 130-137.1998.
21. Kurman, R.J., Solomon, D. O sistema Bethesda para o relato de diagnóstico citológico cervicovaginal - Definições, critérios e notas explicativas para terminologia e amostra adequada. 2º ed. Rio de Janeiro: Revinter. 1997.
22. Lima, D.N.O., Câmara, S., Mattos, M.G.G., Ramalho, R. Cytological diagnosis of Ascus: its importance in clinical conduct. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v.38, p.45-49, 2001.
23. Quittlet, F. A., Campmajó, E.G., Romero, R.A.E., Soler, I., Yabar, M.D.F, Morita, M.C., Figueras, S.S. ASCUS and quality control in cytology. *Rev Esp Patol*, vol 36 (1), 1: 65-70, 2003.
24. Smith, A. E., Sherman, M.E., Scott, D.R., Tabbara, S.O., Dworkin, L., Olson, J., Thompson, J., Faser, C., Snell, J., Schiffman, M. Review of the Bethesda system atlas does not improve reproducibility or accuracy in the classification of atypical squamous cells of undetermined significance smears. *Cancer (Cancer Cytopathol.)*, 90: 201-206, 2000.
25. Stanley, D.E., Plowden, K., Sherman, M.E. Reclassification of negative smears as atypical squamous cells of undetermined significance in quality assurance reviews: implications and limitations. *Cancer (Cancer Cytopathol.)*, 87:351-353, 1999.
26. Wilbur, D.C., Prey, M.U., Pawlick, G.P., Colgan, F.J., Taylor, D.D. Detection of high-grade squamous intraepithelial lesions quality control in gynecologic cytology. *Cancer (Cancer Cytopathol.)*, 1987-1999, 1999.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Vera Regina Andrade Vargas
Rua Barão de Santo Ângelo, 1305, Santo Ângelo, RS
CEP: 98801-740
Tel. (55) 3313 1744
e-mail: vvargas@urisan.tche.br

PRÊMIO HOTSOFT INFORMÁTICA

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

- 1) O "Prêmio Hotsoft Informática" - é promovido pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, com o patrocínio da Hotsoft Informática Ltda;
- 2) O Prêmio será no valor de R\$ 3.000,00, além de diploma alusivo;
- 3) O Prêmio será entregue na solenidade programada pela SBAC, nos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas.

II - DOS OBJETIVOS

- O "Prêmio Hotsoft Informática" tem por objetivos;
- 1) Estimular o desenvolvimento de soluções que atendam às necessidades dos Laboratórios de Análises Clínicas em qualquer de suas especialidades na área de informática; e
 - 2) Premiar o melhor Programa (Software) inscrito e apresentado no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas.

III - DA PARTICIPAÇÃO

- 1) Poderão concorrer ao Prêmio, todos os Programas (Softwares) inscritos e apresentados no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas;
- 2) Para concorrer ao Prêmio Hotsoft Informática, os autores deverão remeter à Secretaria da SBAC, até 30 dias antes do Congresso, 05 (cinco) cópias do programa original completo em disquete ou CD, com o seu respectivo manual de utilização;
- 3) Os Programas concorrentes deverão ser originais no país e no estrangeiro, não publicados ou comprometidos para publicação em qualquer Revista Científica da Especialidade, e nem tão pouco já comercializados;
- 4) O Programa premiado será obrigatoriamente divulgado na íntegra, com exclusividade, na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 5) Os demais Programas selecionados pela Comissão Julgadora para concorrer ao Prêmio, poderão ser divulgados na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 6) O não atendimento aos itens 1 à 3 desqualifica o programa e/ou o recebimento do Prêmio.

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

- 1) A Comissão Julgadora será composta de pelo menos 05 (cinco) membros nomeados pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, sendo um o Presidente;
- 2) A composição da Comissão Julgadora será escolhida antecipadamente e publicada no programa oficial do Congresso;
- 3) A Comissão Julgadora selecionará os 03 (três) melhores Programas apresentados, outorgando a um deles o Prêmio Hotsoft Informática, e aos outros 02 (dois) será outorgado um diploma de Menção Honrosa;
- 4) A Comissão Julgadora anunciará a sua decisão final após avaliar todos os Programas apresentados;
- 5) A decisão da Comissão Julgadora é soberana e irrecorrível.

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

- 1) O Prêmio é indivisível e será conferido a apenas um programa, ficando a inteiro critério dos autores seu eventual rateio;
- 2) O Programa concorrente ao prêmio, obrigatoriamente, deve ser apresentado na sessão de Temas Livres por um dos autores do Programa regularmente inscrito no Congresso;
- 3) Caso a Comissão Julgadora dos Prêmios decidir não premiar nenhum dos trabalhos apresentados para concorrer ao prêmio em virtude de não atingir os objetivos de prêmios, o valor deste será revertido para pagamento dos anúncios da empresa promotora publicados na RBAC, no SBAC Jornal e divulgados no site da SBAC.
- 4) A Hotsoft manterá seção permanente em seu site na internet para divulgar o resumo dos trabalhos inscritos e uma versão demonstrativa dos programas vencedores nas diversas edições do Prêmio;
- 5) Os casos omissos serão resolvidos pela Diretoria da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, ouvida a Comissão Julgadora.

Rio de Janeiro, 30 de dezembro de 2004.

Dr. Ulisses Tuma
Presidente

Informações:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio Hotsoft Informática

Rua Vicente Licínio, 95 • Tijuca • 20270-902 • Rio de Janeiro • RJ

Perfil de resistência da bactéria da espécie *Serratia marcescens* isolada de infecções hospitalares no Hospital Geral de Fortaleza (H.G.F.)^{*}.

Resistance profile of the *Serratia marcescens* bacterium species isolated in hospital infections within the Fortaleza General Hospital (H.G.F.)

Fábio Frota de Vasconcelos¹, Everardo Albuquerque Menezes¹, Francisco Afrânio Cunha¹, Maria Núbia Cavalcante Salviano², Maria Rozellê Ferreira Ângelo² & Inácio Régis Nascimento Oliveira².

RESUMO - *Serratia marcescens* é o membro mais importante desse gênero e é geralmente associado a uma variedade de infecção humana, em particular pneumonia e septicemia em pacientes com câncer reticulo endotelial que recebem quimioterapia. Às vezes, esse microrganismo também provoca infecções do trato urinário e infecções em ferimentos. Devido à virulência potencial de espécies de *Serratia*, é importante que esses microrganismos sejam separados do grupo *Enterobacter*. A produção de Dnase extracelular detectável por espécies de *Serratia* é uma característica confiável, através da qual essa separação pode ser feita. O objetivo deste trabalho foi verificar o perfil de resistência de cepas de *Serratia* isoladas em pacientes com infecção hospitalar no Hospital Geral de Fortaleza. Foram pesquisados todos os casos de infecção hospitalar na UTI e Berçário, no período de 1º de janeiro a 30 de dezembro de 2002, no Hospital Geral de Fortaleza. As Bactérias isoladas foram identificadas por meio do aparelho de automação MicroScan. Para tal, foram utilizados Painéis Convencionais BreakPoint Combo e ID tipo 2, e painéis Convencionais Liofilizados MicroScan® Liofilizados MIC/Combo 14, destinados à determinação da susceptibilidade a agentes antimicrobianos. A UTI e o Berçário são dois locais onde ocorreram a frequência da bactéria *Serratia marcescens* (3,44%). O setor que apresentou maior resistência a antibióticos foi o berçário, sendo resistente a vários antibióticos de última geração. A UTI apresentou mais sensibilidade, incluindo aos antibióticos de última geração.

PALAVRAS-CHAVE - *Serratia marcescens*, resistência, Infecções Hospitalares

SUMMARY - *Serratia marcescens* is the most important member of its genus and is generally associated with several human infections, particularly pneumonia and septicemia in patients with reticuloendothelial cancer receiving chemotherapy. At times, this microorganism is also the cause of both urinary tract-related and wound-related infections. Due to the potential virulence of the *Serratia* species, it is necessary that these microorganisms be separated from the *Enterobacter* group. The production of extracellular DNase detectable by *Serratia* species is a trustworthy feature, through which the separation can be achieved. This study is aimed at verifying the resistance profile of *Serratia* variants that were isolated in patients with hospital infection, hospitalized in the Fortaleza General Hospital (H.G.F.). The investigation encompassed all cases of hospital infection found in H.G.F.'s Intensive Care Unit (ICU) and Nursery Ward from January 1st to December 30th, 2002. The isolated bacteria were identified by means of the automation appliance MicroScan. Conventional BreakPoint Combo and type 2 ID Panels were utilized as well as MicroScan® conventional Liofilized panels (Liofilized MIC/Combo 14), for the purpose of determining the bacteria's susceptibility to antimicrobials. The ICU and the Nursery Ward are the two places where the presence of the *Serratia marcescens* bacterium was found (3.44%). The ward that presented greater resistance to antibiotics was the Nursery Ward, being resistant to various latest-generation antibiotics. The ICU proved to be more susceptible, including the latest-generation antibiotics.

KEYWORDS - *Serratia marcescens*, resistant, nosocomial infections

INTRODUÇÃO

Os bacilos gram-negativos pertencentes às *Enterobacteriaceae* são as bactérias isoladas com mais frequência em amostras biológicas. Distribuídos amplamente na natureza, esses microrganismos são encontrados no solo, água, plantas e, como indica o nome da família, no trato intestinal de seres humanos e animais¹.

Devido à virulência potencial de espécies de *Serratia*, é importante que este microrganismo seja separado do grupo *Enterobacter*. A produção de Dnase extracelular detectável por espécies de *Serratia* é uma característica confiável, através da qual essa separação pode ser feita. As diferenças na utilização de carboidratos, tais como: Ducitol, Adonitol, Inositol, Sorbitol, Arabinose e Rafinose, também ajudam na identificação de espécies de *Serratia*^{2,3,4}.

Destas espécies de *Serratia* identificadas, a *Serratia marcescens* é a que causa a maioria absoluta das doenças hu-

manas. Nesta espécie, os organismos são fermentadores lentos de lactose, são móveis e positivos para as atividades da lipase, da gelatinase, da ornitina descarboxilase e da DNAse^{1,4}.

S. marcescens é o membro mais importante desse gênero e é geralmente associado a uma variedade de infecção humana, em particular, pneumonia e septicemia, em pacientes com câncer reticuloendotelial que recebem quimioterapia. Às vezes, esse microrganismo também provoca infecções do trato urinário e infecções em ferimentos¹.

Em determinada ocasião, esse microrganismo foi utilizado como comensal inócuo para detectar contaminação ambiental, a princípio devido à característica pigmentação vermelha de algumas cepas, de fácil detecção em meios de cultura. Entretanto, é reconhecida como um patógeno importante, com propriedades invasoras e tendência a resistir a muitos dos antibióticos utilizados na atualidade¹.

S. marcescens pode ser um importante oportunista nosoco-

Recebido em 08/12/2004

Aprovado em 14/11/2005

^{*} Trabalho realizado no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Geral de Fortaleza.

¹Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará; ²Farmacêutico Bioquímico do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Geral de Fortaleza

mial, como evidenciado em um caso recente de meningite infantil, após utilização de solução desinfetante de cloreto de benzalcônio contaminada^{5,6}.

O gênero *Serratia* é considerado atualmente uma bactéria emergente, causando infecção em todo o mundo, principalmente infecções hospitalares. Esta bactéria, segundo a literatura internacional, está sendo isolada com frequência em espécimes clínicos^{1,7}.

Diante do que foi exposto acima e devido à alta resistência de *Serratia marcescens*, bem como, o aumento da prevalência desta bacteriose em nosso meio e devido ao aparecimento de resistência destas cepas aos antimicrobianos, surgiu o interesse em estudar este patógeno no Hospital Geral de Fortaleza.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram pesquisados todos os casos de infecção hospitalar na UTI e Berçário, no período de 1º de janeiro a 30 de dezembro de 2002 no Hospital Geral de Fortaleza. As Bactérias isoladas foram identificados com base nas provas bioquímicas realizadas pelo aparelho de automação MicroScan®, foram utilizados Painéis Convencionais BreakPoint Combo e ID tipo 2, e painéis Convencionais Liofilizados MicroScan® Liofilizados MIC/Combo 14, destinados à determinação da susceptibilidade a agentes antimicrobianos. O procedimento de microdiluição para a determinação da sensibilidade de antimicrobianos fornece ao microbiologista um método seguro para a obtenção de resultados quantitativos para os testes de sensibilidade. Este procedimento é usado para determinação da concentração inibitória mínima (MIC) dos antimicrobianos.

Os antibióticos utilizados no Pannel MicroScan® foram: Ampicilina, Ciprofloxacina, Levofloxacina, Nitrofurantoína, Penicilina, Rifampicina, Tetraciclina, e Vancomicina.

RESULTADOS

Durante o período de estudo foram observados *Serratia* da espécie *Serratia marcescens* nos setores pesquisados (UTI e Berçário) em infecções hospitalares. A frequência da bactéria *Serratia marcescens* em infecções hospitalares nos setores de UTI e Berçário do Hospital Geral de Fortaleza, no ano 2002 foi de 3,44% (11 casos). 96,66% foram de infecções por outras bactérias de acordo com a figura 1.

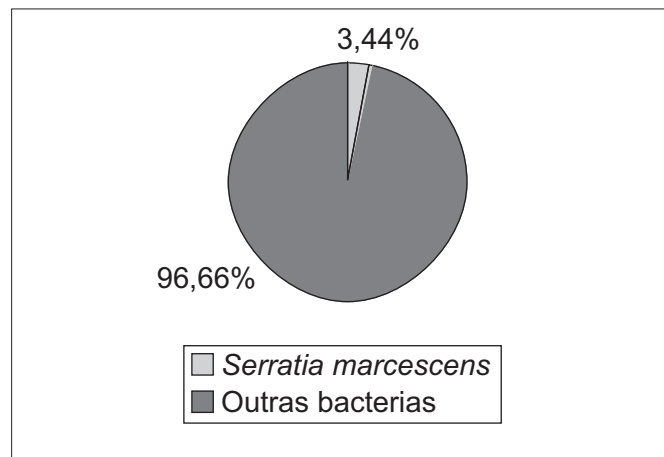


FIGURA 1 - A frequência da bactéria *Serratia marcescens* em infecções hospitalares no HGF nos setores de UTI e Berçário em 2002.

A frequência da bactéria *Serratia marcescens* em infecções hospitalares no berçário do Hospital Geral de Fortaleza no ano de 2002 foi de 7%, de acordo com a figura 2.

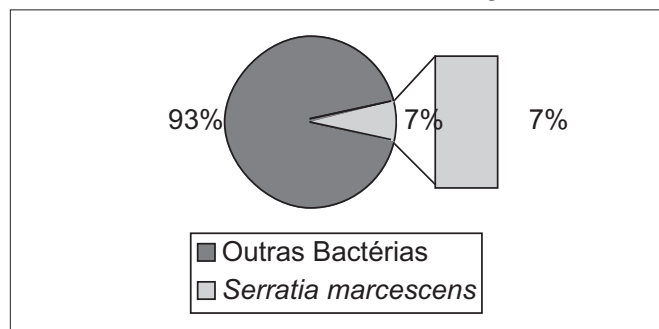


Figura 2 - Frequência da bactéria *Serratia marcescens* em infecções hospitalares no berçário do Hospital Geral de Fortaleza, no ano de 2002.

A frequência de *Serratia marcescens* em infecções hospitalares na UTI do Hospital Geral de Fortaleza no ano 2002 foi de 4%, de acordo com a figura 3.

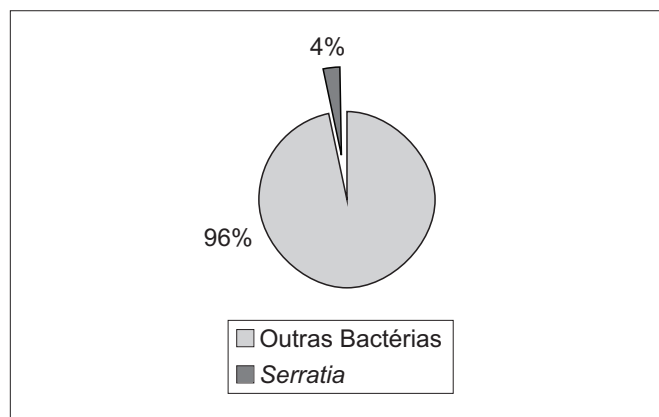


Figura 3. Frequência de *Serratia marcescens* em infecções hospitalares na UTI do Hospital Geral de Fortaleza no ano de 2002.

Tabela I

Perfil de ® Resistência e (S) Sensibilidade aos antibióticos que foram utilizados no Hospital Geral de Fortaleza, no período 01 de janeiro à 30 de dezembro de 2002, no tratamento de pacientes com infecção hospitalar por *Serratia marcescens*.

ANTIBIÓTICOS	Berçário	UTI
Amicacina	R	R
Amoxicilina/ ác. clavulônico	-	R
Ampicilina	R	R
Cefepime	S	S
Cefotaxima	R	R
Ceftazidime	R	-
Ceftriaxona	R	R
Cefuroxima	R	S
Ciprofloxacina	S	S
Gentamicina	R	S
Imipenem	S	S
Norfloxacina	-	S
Nitrofurantoína	-	R
Ofloxacina	S	S
Piperacilina	R	R
Piperacilina/tazobactam	R	R
Ticarcilina/ k clavulonato	R	R
Tobramicina	R	-
Trimetoprim/Sulfametazole	S	S
Total	5S e 11R	8S e 9R

A tabela 1 mostra o perfil de sensibilidade da bactéria *Serratia marcescens*, em infecções hospitalares no berçário e UTI do Hospital Geral de Fortaleza no ano 2002.

O setor em que ocorreu maior resistência aos antibióticos foi o berçário, com onze (11) casos de resistência aos antimicrobianos testados e cinco (05) sensíveis. Na UTI, os resultados mostraram uma maior sensibilidade, com nove (09) casos de resistência a antimicrobianos e oito (08) sensíveis.

DISCUSSÃO

Os problemas associados às infecções hospitalares por *Serratia marcescens* vêm se tornando cada vez mais evidentes. Diversos autores têm descrito casos de infecções nosocomiais por *Serratia*, e o espectro das infecções inclui meningites, infecções pulmonares, septicemias, endocardites e uma grande variedade de infecções localizadas¹.

As infecções causadas por *Serratia* estão claramente associadas com hospitalização, especialmente, com problemas invasivos como cateterização intravenosa, intubação respiratória e manipulações no trato urinário. Além disso, epidemias de pneumonia causada por *Serratia* têm sido associadas com contaminação da água em aparelhos utilizados para terapia respiratória. Antes do uso extensivo destes procedimentos, a *Serratia marcescens* era uma bactéria inofensiva, isolada mais freqüentemente de fontes ambientais como a água⁶.

Neste trabalho verificou-se que houve uma freqüência de 3,44% (11 casos) da bactéria *Serratia* em infecções hospitalares nos setores da UTI, e Berçário do Hospital Geral de Fortaleza no ano de 2002 (Figura 1). Também, pode-se observar que a *Serratia marcescens* foi a única encontrada nestes 11 casos, o que vem confirmar o trabalho de Bermudez e Vidal⁸ que relataram a freqüência da bactéria *Serratia marcescens* associadas às infecções hospitalares e, assim como neste trabalho, tiveram uma freqüência de 3,5%. Concluíram, assim, que esta bactéria vem se tornando cada vez mais evidente, bem como, o aumento da sua freqüência, o que também foi observado neste trabalho.

Nas figura 2 e 3 observou-se os principais locais onde foram isoladas as *Serratia marcescens*, de infecções hospitalares no hospital Geral de Fortaleza: No berçário (figura 2) ocorreu uma freqüência de 7% e na UTI (figura 3) ocorreu uma freqüência de 4% de cepas de *Serratia marcescens*. Bermudez e Vidal⁸ encontraram uma freqüência muito baixa na UTI do Hospital do Câncer, apenas dois isolados, este trabalho observou-se 4% de cepas de *Serratia marcescens* na UTI (figura 3).

Em relação aos testes de susceptibilidade, observou-se que no setor de neonatologia houve maior resistência da bactéria *Serratia marcescens* aos antibióticos, em relação à UTI onde observou-se um pouco menos de resistência (Tabela 2). No estudo de Bermudez e Vidal⁸, também observaram a quase total ineficácia das cefalosporinas de primeira geração contra *Serratia marcescens*, assim como, aumento na freqüência de resistência a alguns aminoglicosídeos e total resistência à ampicilina. Houve uma sensibilidade da bactéria *Serratia* à sulfa+trimetoprim, gentamicina e ciprofloxacina assim como imipenem.

Assim, como Medeiros e O'Brian⁹, achou-se que esta alta incidência de resistência pode estar relacionada à pressão seletiva exercida pelos antibióticos, devido os longos períodos de terapia antimicrobiana necessária em muitos destes pacientes.

Esta bactéria possui considerável resistência à maioria dos antibióticos, seja por impermeabilidade da parede celular

ou produção de betalactamases, fazendo das infecções por *Serratia* uma das mais difíceis de serem tratadas. Esta considerável resistência a antibióticos também foi observada no trabalho realizado por Kriger *et al.*¹⁰.

Na atualidade, a resistência bacteriana adquirida é descrita em praticamente todas as espécies de bactérias, conhecendo-se detalhes dos mecanismos de aquisição de resistência e os mecanismos moleculares da manifestação da resistência^{11,12}.

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, concluiu-se que estudos freqüentes devem ser realizados a fim de avaliar alterações na prevalência e, principalmente na, resistência aos antimicrobianos usados na terapêutica de infecções por *Serratia marcescens*.

CONCLUSÃO

- A UTI e Berçário são dois locais onde apareceram as bactéria *Serratia marcescens* (3,44%);
- As bactérias isoladas do berçário apresentaram maior resistência a antibióticos, sendo resistente a vários antibióticos de ultima geração;
- A cefepime, uma cefalosporina de 4ª geração inibiu a *Serratia marcescens*, isto é muito bom, porque assim temos antibiótico de escolha para o tratamento desta infecção hospitalar;
- As bactérias isoladas na UTI apresentaram maior susceptibilidade, incluindo os antibióticos de ultima geração, demonstrando a eficiência da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar;

REFERÊNCIAS

1. Koneman, E. W.; Allen, S. D.; Janda, W. M.; Schreckenberger, P. C.; Winn Jr W.C.: Diagnóstico microbiológico 5ª edição, São Paulo, 2001.
2. Elin, R. J.; Robinson, R. A.; Levis, A. S.: Lack of clinical usefulness of the limulus test in the diagnosis of endotoxemia. N Engl J Med 293:521-524, 1975.
3. Sanders, C. C.; Moellering, R. C.; Martin Jr, R. R.: Resistance to cefamandole: a collaborative study of emerging clinical problems. J Infect Dis 145:1181-1185, 1982.
4. Sanders, C. C. & Sanders, W. E. Jr: Emergence of resistance during drug therapy with newer beta lactam antibiotics: role of inducible beta lactamases and implications for the future. Rev infect Dis 5: 639-648, 1983.
5. Sautter, R. L.; Mattman, L. H.; Legaspi, R. C.: *Serratia marcescens* meningitis associated with a contaminated benzalkonium chloride solution. Infect Control 5: 216-225, 1984.
6. Ursua, P. R.; Unzaga, M. J.; Melero, P.; Iturburu, I.; Ezpeleta, C.; Cisterna, R.: *Serratia rubidaea* as an invasive pathogen. J Clin Microbiol 34:216-217, 1996.
7. Zbinden, R. & Blass, R.: *Serratia plymuthica* osteomyelitis following a motorcycle accident. J Clin Microbiol 26, 1409-1410, 1988.
8. Bermudez, L. E. & Vidal, E.: Sensibilidade de 1156 cepas de Enterobacterias à carbenicilina e cefalotina. Rev. Bras. Patol. Clin. 1984, 20-107.
9. Medeiros, A. A. & O'brian, T. F.: Contribution of R factors to the antibiotic resistance of hospital isolated of *Serratia*. Antimicrob. Agents Chemother. 2-30, 1969.
10. Kriger, I. N.; Kaiser, D. L.; Wenzel, R. P.: Urinary tract etiology of bloodstream infection in hospitalized patients. J. Infect. Dis 57-148, 1983.
11. Levy, S. B.: Microbial resistance to antibiotics. Lancet, 2:83-88, 1998.
12. Jacoby, G. A.: Epidemiology of extended-spectrum b-lactamases. Clinical Infectious Diseases 27:81-83, 1998.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Prof. Everardo Albuquerque Meneses

Rua Frei Mousueto, 150/501

CEP. 60175-070 - Fortaleza - CE

PRÊMIO NEWPROV

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

- 1) O Prêmio NEWPROV é promovido pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - SBAC, com o patrocínio da NEWPROV PRODUTOS PARA LABORATÓRIOS LTDA;
- 2) O Prêmio será no valor correspondente a R\$ 2.000,00 dois mil reais, na data da outorga, além de diploma alusivo;
- 3) O Prêmio será entregue na solenidade programada pela SBAC nos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas - CBAC.

II - DOS OBJETIVOS

O Prêmio NEWPROV tem por objetivos;

- 1) Estimular o desenvolvimento de pesquisas na área de Microbiologia no País; e
- 2) Premiar o melhor trabalho sobre Microbiologia inscrito e apresentado no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, com vistas a melhoria técnica do Laboratório Clínico.

III - DA PARTICIPAÇÃO

- 1) Poderão concorrer ao Prêmio, todos os trabalhos inscritos e apresentados no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas;
- 2) Para concorrer ao Prêmio, os autores deverão remeter à Secretaria da SBAC, até 30 dias antes do Congresso, 05 (cinco) cópias em papel do trabalho original completo e uma cópia em disquete ou CD (linguagem Word for Windows), atendendo às normas de publicação da Revista Brasileira de Análises Clínicas contendo: introdução (com objetivo definido do trabalho) material e métodos, resultados, discussão, conclusão, bibliografia, resumo em português, summary em inglês, palavras chaves (unitermos) e key words (uniterms).
- 3) Os trabalhos concorrentes deverão ser escritos em português e ser originais, ainda não publicados nem comprometidos para publicação em qualquer Revista Científica da Especialidade;
- 4) O trabalho premiado será obrigatoriamente publicado, com exclusividade, na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 5) Os demais trabalhos selecionados pela Comissão Julgadora para concorrer ao Prêmio NEWPROV poderão ser publicados na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 6) O não atendimento aos itens 1 à 3 desqualifica o trabalho e/ou o recebimento do Prêmio.

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

- 1) A Comissão Julgadora será composta de pelo menos 05 (cinco) membros nomeados pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, sendo um o Presidente;
- 2) A composição da Comissão Julgadora será divulgada pela SBAC nos Programas oficiais dos CBAC;
- 3) A Comissão Julgadora selecionará os 03 (três) melhores trabalhos apresentados, outorgando a um deles o Prêmio NEWPROV, e aos outros 02 (dois), será outorgado um diploma de Menção Honrosa;
- 4) A decisão da Comissão Julgadora é soberana e irrecorrível.

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

- 1) O Prêmio NEWPROV é indivisível e será conferido a apenas um trabalho, ficando a inteiro critério dos autores seu eventual rateio;
- 2) O Trabalho concorrente ao Prêmio NEWPROV obrigatoriamente, deve ser apresentado na sessão de Temas livres por um dos autores regularmente inscrito no Congresso;
- 3) Caso a Comissão Julgadora dos Prêmios decidir não premiar nenhum dos trabalhos apresentados para concorrer ao prêmio em virtude de não atingir os objetivos de prêmios, o valor deste será revertido para pagamento dos anúncios da empresa promotora publicados na RBAC, no SBAC Jornal e divulgados no site da SBAC.
- 4) Os casos omissos serão resolvidos pela Diretoria da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, ouvida a Comissão Julgadora.

Rio de Janeiro, 30 de dezembro de 2004.

Dr. Ulisses Tuma
Presidente

Informações:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio NEWPROV

Rua Vicente Licínio, 95 • Tijuca • 20270-902 • Rio de Janeiro • RJ

Levantamento de Protozoonoses e Verminoses nas sete creches municipais de Uruguaiana, Rio Grande do Sul – Brasil.*

Setting up of protozoonoses and verminosis in the seven municipal day care centers of Uruguaiana, Rio Grande do Sul - Brazil.*

Éder Mauro Silveira Chaves¹; Letícia Vazquez²; Kellen Lopes²; Juliana Flores²; Liliâne de Oliveira²; Lisiane Rizzi³; Emil Youssef Fares³ & Marcus Querol⁴

RESUMO - O presente trabalho objetivou verificar a incidência de parasitoses intestinais em crianças, nas sete creches municipais de Uruguaiana, RS, Brasil. A pesquisa foi realizada em dois ciclos, o primeiro de maio a setembro de 2002 e o segundo, de maio a novembro de 2003. Em ambos os períodos foram coletados uma amostra de cada criança. O material foi colocado em frascos plásticos e os exames foram processados conforme o método de Lutz, Hoffmann, Pons e Janer (1919) ou Técnica de Sedimentação Espontânea, que é utilizada para diagnosticar ovos e larvas de helmintos e cistos de protozoários (VALLADA, 1993). Foram constatadas as seguintes verminoses: *Ascaris lumbricoides*, *Hymenolepis nana*, *Trichuris trichiura*, *Strongyloides stercoralis*, *Enterobius vermicularis* e das protozoonoses verificou-se *Giardia lamblia*, *Entamoeba coli* e *Entamoeba histolytica*.

PALAVRAS-CHAVE - parasitoses intestinais; crianças; Uruguaiana.

SUMMARY - The aim of this paper was to verify the incidence of intestinal parasitosis in children, in the seven municipal day care centers of Uruguaiana, RS, Brazil. The research was made in two periods, the first, from May to September of 2002 and the second, from May to November of 2003. In both periods it has been collected a sample of each child. The collected material was disposed in plastic flasks and the tests were processed according to the method of Lutz, Hoffmann, Pons and Janer (1919) or the Technic of Spontaneous Sedimentation, which is used to diagnosticate eggs and worms of helminths and protozoars (VALLADA, 1993). The followed verminosis were found: *Ascaris lumbricoides*, *Hymenolepis nana*, *Trichuris trichiura*, *Strongyloides stercoralis*, *Enterobius vermicularis* and among the protozoonoses was verified *Giardia lamblia*, *Entamoeba coli* and *Entamoeba histolytica*.

KEYWORDS - intestinal parasitoses; children; Uruguaiana.

INTRODUÇÃO

O estudo da parasitologia é fundamental, pois, as doenças parasitárias são frequentes na população mundial. Alguns parasitos representam um grave problema de saúde pública, sendo, na maioria das vezes, ao lado da má nutrição, os responsáveis por deficiência no aprendizado das crianças e no desenvolvimento físico, podendo ocasionar incapacidade funcional (CIMERMAN, 1999).

Partindo do exposto, vê-se que, indubitavelmente, as parasitoses intestinais constituem um grave problema de saúde pública, tornam-se uns dos principais fatores debilitantes da população e, como consequência, temos o comprometimento do desenvolvimento físico e intelectual das crianças, principalmente na menor faixa etária, e isso ocorre não apenas no estado do Rio Grande do Sul, mas em todo Brasil. Uruguaiana, cidade localizada no extremo oeste do RS, não foge a essa realidade. A deficitária rede de esgoto, como também as precárias condições de higiene onde vivem, aliadas à falta de limpeza dos reservatórios de água e a não utilização de água filtrada ou fervida, certamente são os principais responsáveis pela incidência de parasitoses ora verificada.

Com o intuito de contribuir para a conscientização da população dos problemas de saúde pública decorridos de contaminação por protozoários e vermes típicos de áreas carentes de saneamento básico e de divulgar os resultados

dos exames das crianças das creches, realizou-se este trabalho.

MATERIAIS E MÉTODOS

Nos períodos de maio a setembro de 2002 e maio a novembro de 2003 foram analisados 1288 exames parasitológicos de fezes em crianças de 5 meses a 6 anos e 11 meses de idade, nas sete creches municipais de Uruguaiana – RS. As creches estudadas foram: Tia Mercedes, Tia Nina, Cinde-rela, CAIC, Sítio do Saci Pererê, Vovó Chica e Casinha da Emília. Seis dessas são localizadas em áreas periféricas, sendo que, em todas elas existem crianças carentes que residem em locais com falta de saneamento básico e precárias condições de moradia.

As amostras foram processadas conforme o método de Lutz, Hoffmann, Pons e Janer (1919) ou Técnica de Sedimentação Espontânea, que é utilizada para diagnosticar ovos e larvas de helmintos e cistos de protozoários. Foi examinada uma lâmina de cada amostra, por indivíduos.

Previamente, foram feitas palestras educativas sobre prevenção e conscientização, com distribuição de folhetos explicativos para os pais, assim como, instruções quanto à coleta do material. Ao final da palestra, foram entregues os frascos previamente identificados com o nome de cada criança. A direção das creches encaminhava diariamente ao Laboratório Vitalab os frascos com o material coletado.

Recebido em 28/12/2004

Aprovado em 14/11/2005

*Pesquisa realizada no Laboratório Vitalab

¹Farmacêutico e Bioquímico Coordenador e Executor do Projeto – vitalab@bnet.com.br

²Acadêmicas do Curso de Ciências Biológicas PUCRS – Campus Uruguaiana – leticia_guima@yahoo.com.br; joannhaju@yahoo.com.br; jf091@bol.com.br; kendra_li@hotmail.com

³Farmacêuticos e Bioquímicos Colaboradores nas Análises – vitalab@bnet.com.br

⁴Orientador do Curso de Ciências Biológicas – NUPILABRU (Núcleo de Pesquisas Ictiológicas, Limnológicas e Aquicultura da Bacia do Rio Uruguai) – Campus Uruguaiana – mquerol@pucrs.campus2.br

RESULTADOS

Na figura 1, observa-se o número total 1288 (100%) crianças analisadas em ambos os ciclos, sendo 793 (61,6%) crianças não parasitadas e 495 (38,4%) crianças parasitadas.

Tabela I – Figura 1
Total de Positividade em Ambos os Ciclos

Resultados	Frequência	Número de indivíduos
Parasitados	38,4%	495
Não parasitados	61,6%	793
Total	100,0%	1288

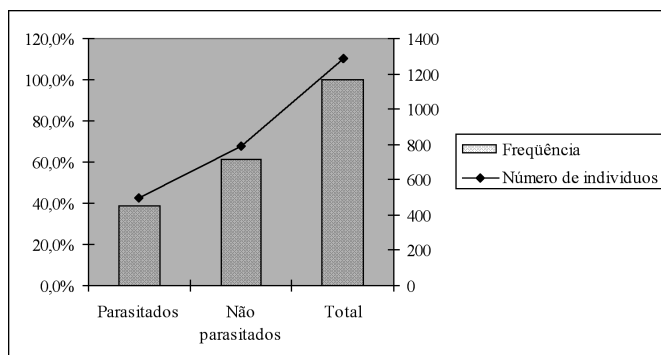


Tabela II - Figura 1
Total de Parasitas Encontrados no Primeiro Ciclo

Parasitos	Frequência	Indivíduos parasitados
<i>Giardia lamblia</i>	74,1%	206
<i>Ascaris lumbricoides</i>	18,0%	50
<i>Entamoeba coli</i>	14,0%	39
<i>Hymenolepis nana</i>	4,7%	13
<i>Trichuris trichiura</i>	2,2%	6
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1,4%	4
<i>Enterobius vermicularis</i>	1,1%	3
<i>Entamoeba histolytica</i>	0,7%	2

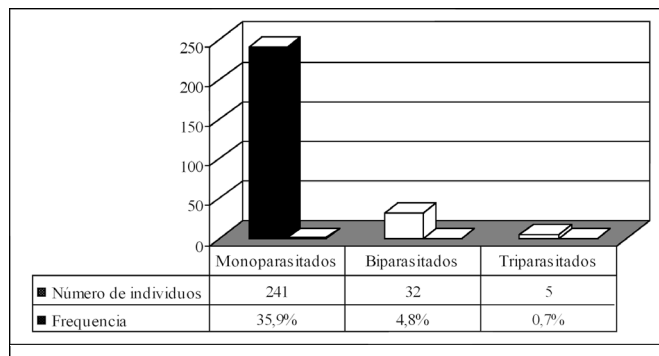
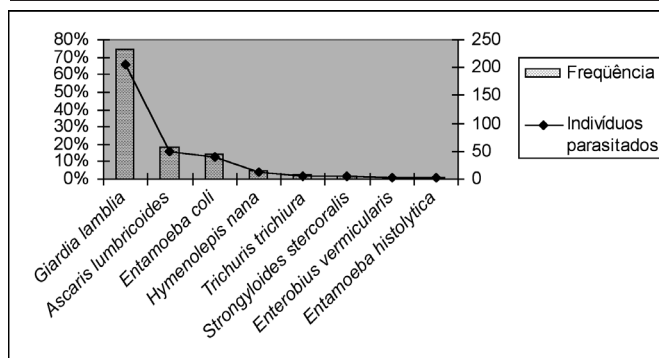
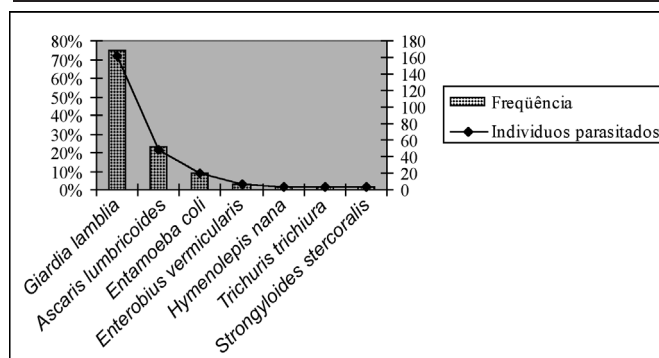


Figura 2a - Total De Parasitas Encontrados Por Indivíduo

A tabela 2, figura II e figura IIA mostram o resultado obtido no primeiro ciclo, contou do exame de 672 crianças, obtendo-se os seguintes resultados: 278 positivos (41,4%) e 394 negativos (58,6%), onde se encontrou: 35,9% (241) monoparasitados, 4,8% (32) biparasitados e 0,7% (5) triparasitados; entre os helmintos destacaram-se 18% (50) de *Ascaris lumbricoides*; 4,7% (13) de *Hymenolepis nana*; 2,2% (6) de *Trichuris trichiura*; 1,4% (4) de *Strongyloides stercoralis*; 1,1% (3) de *Enterobius vermicularis*; entre os protozoários destacaram-se 74,1% (206) de *Giardia lamblia*; 14% (39) de *Entamoeba coli*; 0,7% (2) de *Entamoeba histolytica*.

Tabela III - Figura 3
Total de Parasitas Encontrados no Segundo Ciclo

Parasitos	Frequência	Indivíduos parasitados
<i>Giardia lamblia</i>	74,6%	162
<i>Ascaris lumbricoides</i>	22,6%	49
<i>Entamoeba coli</i>	9,2%	20
<i>Enterobius vermicularis</i>	3,2%	7
<i>Hymenolepis nana</i>	1,8%	4
<i>Trichuris trichiura</i>	1,8%	4
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1,4%	3



A tabela 3 figura III e figura IIIA mostra o resultado obtido no segundo ciclo, contou do exame de 616 crianças, obtendo-se os seguintes resultados: 217 positivos (35,2%) e 399 negativos (64,8%), onde se encontrou 31,0% (191) monoparasitados, 3,9% (24) biparasitados, 0,3% (2) triparasitados; entre os helmintos destacaram-se 22,6% (49) de *Ascaris lumbricoides*; 3,2% (7) de *Enterobius vermicularis*; 1,8%

(4) de *Hymenolepis nana*; 1,8% (4) de *Trichuris trichiura*; 1,4% (3) de *Strongyloides stercoralis*; entre os protozoários destacaram-se 74,6% (162) de *Giardia lamblia*; 9,2% (20) *Entamoeba coli*.

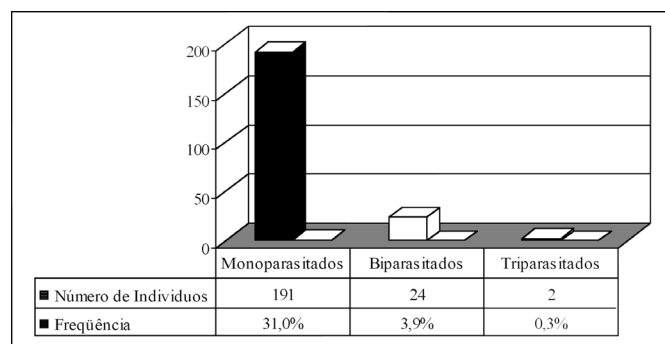


Figura 3a – Total de Parasitos Encontrados por Indivíduo

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão de acordo com CIMERMAN (1999), confirmando que o elevado índice de parasitismo de protozooses e verminoses estão ligadas à grande falta de saneamento e baixas condições de vida, o que contribui para a disseminação, que também está associada a vários fatores, como água, alimentos manipulados por pessoas contaminadas, contato direto (pessoa a pessoa), principalmente em creches, asilos, orfanatos, clínicas, riachos e reservatórios contaminados.

Ainda, NEVES (1991) salienta que a deficiência de princípios higiênicos, precárias condições de moradia, favorecem a disseminação e podem levar a incidência de parasitoses em determinadas regiões.

Não é difícil visualizar um ciclo vital de parasitas em termos de processos populacionais primários. Protozoários e helmintos continuam a produzir impacto bem real na vida do homem e de seus animais domésticos (WILSON, 1980).

Este estudo demonstra a necessidade emergencial de meios de controle sobre o contato das crianças com o meio contaminado, e de necessidade do conhecimento da população sobre a aquisição destas doenças e suas consequências sociais.

AGRADECIMENTOS

Ao Rotary Club de Uruguaiana – Sudeste e a Fundação Rotária que patrocinou a execução do projeto.

Aos colaboradores do Laboratório Vitalab que de forma direta auxiliaram na execução do projeto: Vanessa Colomo Lucho, Karine S. da Silva, Luiz A. Gonçalves Alves e Sabrina S. Cortelin.

À direção e funcionários das Creches Municipais.

Ao professor Hilário Petry, pelas análises matemáticas.

REFERÊNCIAS

1. Cimerman, B. e Cimerman S. Parasitologia Humana e Seus Fundamentos Gerais, São Paulo: Ed. Atheneu, 1999.
2. Coelho C. et al. Manual de Parasitologia Humana, Canoas: Ed. da Ulbra, 1995.
3. Neves, David Pereira Parasitologia Humana, São Paulo: Ed. Atheneu, 1991.
4. Wilson, R. Alan, Introdução à Parasitologia, São Paulo: EPU; Editora da Universidade de São Paulo, 1980.
5. Vallada, E. P. Manual de Exames de Fezes – Coprologia e Parasitologia, São Paulo: Ed. Atheneu, 1993.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Éder Mauro Silveira Chaves

Laboratório Vitalab

Rua General Vitorino, 1990 – Centro – Uruguaiana – RS – CEP 97500-330

E-mail: vitalab@bnet.com.br

33º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 6º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

04 a 08 de junho de 2006

Local:

Estação Embratel Convention Center - Curitiba - PR

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Título de Especialista em Análises Clínicas

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.

Os candidatos para se inscreverem no Concurso do TEAC, deverão solicitar regulamento e ficha de inscrição na SBAC-Nacional ou 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 o apostilamento de Citologia Esfoliativa no Certificado do TEAC. 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 no 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:

Informamos, que o 66º Concurso para Outorga do TEAC – Título de Especialista em Análises Clínicas, será realizado em 03/06/2006 de 08 às 12h (Prova Escrita/Slide) e 13:30 às 18h (Prova Oral), durante o 33º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas e 6º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica, em CURITIBA – PR.

A taxa de inscrição para o Concurso do TEAC e TECC é no valor R\$ 198,00 (cada). Para os inscritos no 33º CBAC e 6º CBCC, haverá desconto de 50% nas inscrições.

O prazo de recebimento das fichas de inscrição para o Concurso do TEAC será até o dia 15/05/2006, (data de postagem).

Lembramos que a ficha de inscrição e o pagamento da taxa para o Concurso do TEAC, deverão ser enviados para a SBAC-Nacional, Rua Vicente Licínio, 99 – Tijuca – 20270.902 – RIO DE JANEIRO – RJ.

**No caso de dúvida e esclarecimentos,
entre em contato conosco:**

**SBAC, através dos tel./fax (21) 2187-0800 e 2187-0805 ou
através do e-mail: teac@sbac.org.br**

**SBCC, através dos tel./fax (62) 3229-0468 e 3223-5661 ou
através do e-mail: sbacco@terra.com.br**

Presença de hiper-homocisteinemia em pacientes portadores de três fatores de risco para doença cardiovascular: hipertensão, tabagismo e histórico familiar.

The presence of homocysteinemia in patients carrying three risk factors for cardiovascular diseases: hypertension, smoking habit and family history.

Nilton Rosini^{1,2}; Andreza Diegoli Rosini¹; Donaida Maria Mousse^{2,3,4}; Maria de Lourdes Rovaris⁵ & Marcos José Machado⁵

RESUMO - A hiper-homocisteinemia é um fator de risco independente para desenvolvimento de doença cardiovascular e na presença de outros fatores de risco (FR) poderá acarretar em risco adicional para o surgimento do evento. Foram realizadas dosagens séricas de homocisteína e creatinina em 146 pacientes (51 homens e 95 mulheres) cadastrados no programa HIPERDIA/MS sendo todos portadores de três FR associados: hipertensão, tabagismo e histórico familiar para doença cardiovascular. A média geral foi de 14,48 $\mu\text{mol/L} \pm 5,98$ (15,38 $\mu\text{mol/L} \pm 6,77$ e 13,99 $\mu\text{mol/L} \pm 5,48$, homens e mulheres respectivamente). A hiper-homocisteinemia esteve presente em 34,90% (39,20% e 32,60%, homens e mulheres respectivamente), de acordo com o intervalo de referência entre 5 – 15 $\mu\text{mol/L}$. Entretanto, segundo recomendações da DACH-LIGA Homocysteine, valores entre 12 – 30 $\mu\text{mol/L}$ são considerados como moderada hiper-homocisteinemia. O estudo revelou que 60,30% (70,60% e 54,70%, homens e mulheres respectivamente) estavam acima de 12 $\mu\text{mol/L}$. Na avaliação do estudo, a dosagem de homocisteína sérica deve ser realizada em pacientes cadastrados no programa HIPERDIA/MS, pois além de hipertensos e/ou diabéticos, a presença de hiper-homocisteinemia pode ser um risco adicional para o desenvolvimento de doença cardiovascular.

PALAVRAS-CHAVE - Homocisteína, hipertensão, tabagismo, histórico familiar para doença cardiovascular, cardiovascular.

SUMMARY - Hiper-homocysteinemia is an independent risk factor in the development of cardiovascular diseases and in the presence of other risk factors (RF) may bring about an additional risk for the occurrence of the event. Serum dosages of homocysteine and creatinine in 146 patients (51 men and 95 women), registered at the HIPERDIA/MS Program, all presenting three associated RF; hypertension, smoking habit and family history for cardiovascular diseases. The general average has been 14.48 $\mu\text{mol/L} \pm 5,98$ (15,38 $\mu\text{mol/L} \pm 6,77$ and 13,99 $\mu\text{mol/L} \pm 5,48$, for men and women respectively). Hiper-homocysteinemia had been present in 34.90% (39.20% and 32.60%, men and women, respectively), according to the reference interval between 5 – 15 $\mu\text{mol/L}$. Although, according to Homocysteine DACH-LIGA recommendations, values between 12 – 30 $\mu\text{mol/L}$ are considered being a moderate hiper-homocysteinemia. The study has revealed that 60.30% (70.60% and 54.70%, men and women, respectively) had been above 12 $\mu\text{mol/L}$. In the evaluation of the study, the serum dosage of homocysteine has to be performed in patients registered at the HIPERDIA/MS Program for, besides being hypertense and/or diabetic, the presence of hiper-homocysteinemia may be an additional risk for the development of cardiovascular disease.

KEYWORDS - Homocysteine, hypertension, smoking habit, family history for cardiovascular disease, cardiovascular.

INTRODUÇÃO

A homocisteína (ácido 2-amino-4 mercaptobutanóico) é um aminoácido sulfurado, produto da demetilação intracelular da metionina e sua elevação nos níveis sanguíneos é considerado fator de risco (FR) independente para o desenvolvimento de doença cardiovascular (DCV).^{6,7}

Estudos sugerem que a hiper-homocisteinemia (HHCY) promove a disfunção endotelial, sendo este o mecanismo de maior importância para o aumento da aterosclerose, acidente vascular cerebral (AVC), infarto agudo do miocárdio (IAM) e, possivelmente, doença de Alzheimer^{5,8,9}. A diminuição na produção de óxido nítrico (fator de relaxamento endotelial), pela produção de assimétrica dimetilarginina (ADMA) que diminui a atividade da óxido nítrico sintetase (eNOS)^{3,18} e o aumento do stress oxidativo com a inibição da produção ou função de enzimas anti-oxidantes como a superóxido desmutase, são conseqüências de HHCY^{12,22}. O aumento na expressão e secreção de proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e interleucina-8 (IL-8) pela HHCY altera a função das células endoteliais contribuindo na pro-

moção da aterogênese¹³.

A maioria dos eventos cardiovasculares tem como causa FR tradicionais, como a hipertensão, aumento de lipoproteína de baixa densidade (LDL), triglicérides, diminuição de lipoproteína de alta densidade (HDL), tabagismo, no entanto um percentual significativo tem origem em outros FR entre eles a HCY, sendo merecedores de estudos⁴.

O tabagismo está associado ao aumento de HCY sérica^{4,7}, apesar do mecanismo continuar indefinido. A fumaça do cigarro induz efeito localizado em células, influenciando na concentração de HCY pela mudança no estado oxidativo do tiol¹², além de inibir a metionina sintase - uma das enzimas responsáveis pela remetilação da HCY².

A HHCY também está associada à hipertensão, especialmente à pressão sistólica, e o tratamento com ácido fólico tem contribuído para a diminuição da pressão arterial. A relação entre o aumento de HCY sérica e a hipertensão tem sido explicada pelo enrijecimento arterial, disfunção arterial em conseqüência da diminuição da bioavaliabilidade do NO, diminuição sérica de folato e resistência à insulina²⁰.

Entre as causas de HHCY existem as de origem genética,

Recebido em 12/04/2004

Aprovado em 23/11/2005

¹Farmac.-Bioquímico do Laboratório de Análises Clínicas Verner Willrich, Brusque, SC.

²Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Farmácia, CCS, UFSC, Florianópolis, SC.

³Farmac.-Bioquímico do HEMOSC, Joinville, SC.

⁴Professora do Curso de Farmácia da UNIVILLE, Joinville, SC.

⁵Professor Adjunto IV Departamento de Análises Clínicas, CCS, UFSC, Florianópolis, SC.

por deficiências nutricionais e situações fisiopatológicas como enfermidade renal, hipotireoidismo, anemia perniciosa, neoplasias¹⁷.

No presente estudo, foi verificado o nível sérico de HCY em pacientes cadastrados no programa HIPERDIA/MS e que apresentavam três FR associados: hipertensão (previamente diagnosticada e em tratamento medicamentoso), tabagismo e histórico familiar para DCV.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Conselho Municipal de Saúde – Brusque/SC, pelo Comitê de Ética do Hospital Arquidiocesano Cônsul Carlos Renaux, (local em que está instalado o Laboratório de Análises Clínicas Verner Willrich e realizadas as dosagens séricas) e pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina. Todos os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido para participarem do estudo.

Foram coletadas e analisadas amostras sanguíneas de 146 pacientes (51 homens e 95 mulheres) com idade entre 30 – 92 anos, cuja média foi de 57,3 anos (58,8 e 56,6 anos, homens e mulheres, respectivamente). Todos cadastrados no Plano de Reorganização da Atenção à Hipertensão Arterial e ao *Diabetes Mellitus* – HIPERDIA/MS na Secretaria Municipal de Saúde – Brusque/SC e apresentavam três FR associados para DCV: hipertensão, tabagismo e histórico familiar.

A dosagem de HCY sérica foi realizada em equipamento IMX – ABBOTT, utilizando conjunto de reativo diagnóstico específico e a creatinina sérica em equipamento CCX – ABBOTT com conjunto reativo *Creatinine FS* (DiaSys).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para verificar a função renal dos participantes, foi realizada a dosagem de creatinina sérica, e a média geral foi de 1,10 mg/dl $\pm$ 0,70 (1,28 mg/dl $\pm$ 1,15 e 0,99 mg/dl $\pm$ 0,18, homens e mulheres respectivamente). As médias permaneceram no intervalo de referência para a metodologia utilizada. O desvio padrão da média geral e entre os homens (0,70 e 1,15) foi elevado, pois um dos pacientes encontrava-se com insuficiência renal severa (creatinina = 9,21 mg/dl) e não estava ciente da patologia. A HCY sérica deste paciente foi de 18,65 μ mol/L.

A média da dosagem sérica de HCY para o grupo foi de 14,48 μ mol/L $\pm$ 5,98 (15,38 μ mol/L $\pm$ 6,77 para os homens e 13,99 μ mol/L $\pm$ 5,48 para as mulheres). No intervalo de referência de 5 – 15 μ mol/L¹¹ a média geral e a média para os participantes do sexo feminino permaneceu de acordo com o referendado, enquanto nos homens foi superior. No entanto, consideradas elevadas quando comparadas ao estudo realizado por Riddell *et al* (1999), na Nova Zelândia, em população clinicamente hígida, cujos valores foram de 9,0 μ mol/L $\pm$ 3,4 μ mol/L e 7,8 $\pm$ 3,5, homens e mulheres, respectivamente¹⁵. O mesmo foi verificado em estudo realizado por Rosini e Machado (2001), na Cidade de Brusque/SC, em pacientes normo e hipertensos. Os valores médios encontrados foram de 10,87 μ mol/L e 13,61 μ mol/L (homens) e 8,53 μ mol/L e 10,74 μ mol/L (mulheres), respectivamente¹⁶. Dos pacientes analisados 34,9% (n = 51) apresentaram concentração sérica de HCY acima de 15 μ mol/L, sendo 39,2% (n = 20) nos homens e 32,6% (n = 31) nas mulheres. Valores entre 12 e 30 μ mol/L, segundo a DACH-LIGA Ho-

mocystein (German, Austrian and Swiss Homocysteine Society), devem ser observados como moderada HHCY, considerados citotóxicos e com prevalência de 5 – 10% na população geral e 40% em população com doença vascular¹⁷. Refsun *et al* (2004) salientam que em adultos com bom estilo de vida e ingestão adequada de vitaminas o limite superior de referência deva ser de 12 μ mol/L¹⁴. Considerando as recomendações da DACH-LIGA Homocystein, 60,3% (n = 88) dos participantes estavam com valores acima de 12 μ mol/L, sendo 70,6% (n = 36) nos homens e 54,7% (n = 52) nas mulheres.

Segundo Malinow (1999) em pacientes com história familiar precoce de DAC, diabéticos e portadores de múltiplos fatores de risco, os níveis séricos de HCY deveriam permanecer inferiores a 10,0 μ mol/L¹¹. No estudo realizado 79,3% (n = 116) dos participantes se encontravam com concentração sanguínea de HCY acima deste valor, sendo 84,3% (n = 43) entre os homens e 76,8% (n = 73) nas mulheres. O percentual de pacientes que apresentou valores de HCY sérica acima de 10, 12 e 15 μ mol/L, está demonstrado na Figura 1 (todo o grupo) e na Figura 2 de acordo com o sexo.

A presença de HHCY em pacientes com FR adicionais (tabagismo, hipertensão, diabetes e hiperlipidemia) produz efeito sinérgico aumentando proporcionalmente o risco para desenvolvimento de DCV¹⁷.

Alguns autores utilizando revisão sistemática aplicando técnicas metanalíticas (metanálise), calcularam o benefício na redução da HHCY sérica e verificaram que a diminuição em 3 - 5 μ mol/L nos níveis séricos de HCY, pode reduzir a incidência de trombose venosa, AVC e DCV em 25%^{19,21}.

A população estudada é hipertensa e em tratamento medicamentoso; a elevação de 5 μ mol/L na concentração sérica de HCY está associada com aumento da pressão sistólica e diastólica, em 0,5 e 0,7 mmHg, respectivamente, em homens e 0,7 e 1,2 mmHg em mulheres e a utilização de Vit B6, Vit B12 e ácido fólico para diminuir a HHCY poderia ser uma terapia auxiliar para redução da hipertensão¹⁰.

Segundo Refsun (2004), as indicações para determinação de HCY sérica deveriam seguir os seguintes critérios: a) diagnóstico de homocistinúria, b) identificação de indivíduos com risco para desenvolver deficiência em Vit B 12 e folato, c) avaliação da HCY como FR para DCV ou outras patologias¹⁴. No estudo realizado, os participantes apresentavam pelo menos três FR para DCV: hipertensão, tabagismo e histórico familiar para doença cardiovascular. Outros FR poderiam estar associados, assim como, foi verificada a presença de HHCY, a qual aumenta o risco para o surgimento de doença cardiovascular, entre os participantes.

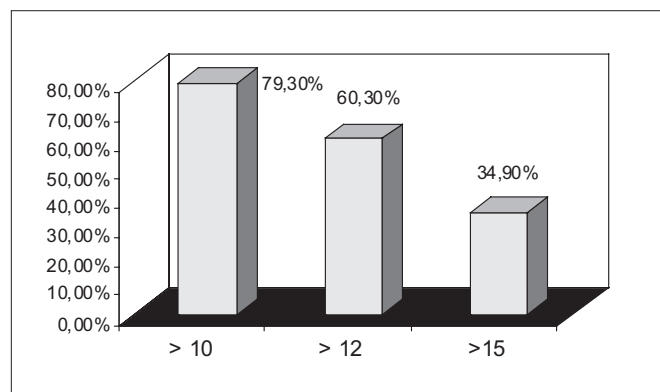


Figura 1 – Percentual de pacientes com concentração sérica de HCY acima de 10; 12 e 15 μ mol/L.

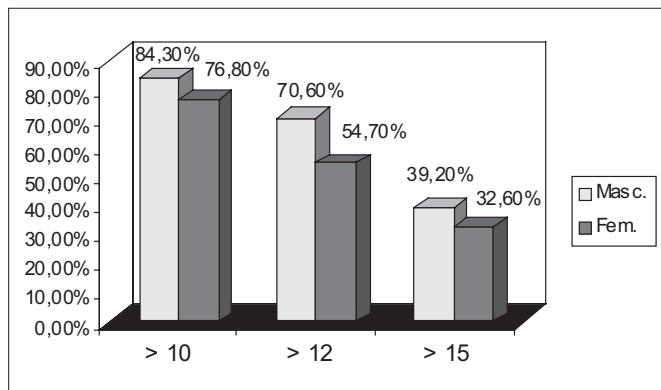


Figura 2 – Percentual de pacientes com concentração sérica de HCY acima de 10, 12 e 15 µmol/L, separado por sexo.

CONCLUSÃO

Em conformidade com o estudo realizado, a dosagem sérica de HCY deveria ser realizada em pacientes cadastrados no programa HIPERDIA/MS, pois, além de hipertensos e/ou diabéticos a presença de HHCY, seria um risco adicional aos já existentes aumentando a possibilidade de desenvolvimento de DCV.

REFERÊNCIAS

- BERGMARK, C. et al. Redox status of plasma homocysteine and related aminothiols in smoking and nonsmoking young adults. *Clin Chem*, v.43, p. 1997-1999, 1997.
- BLOM, H.J. Determinants of plasma homocysteine. *Am J Clin Nutr*, v. 67, p. 188-189, 1998.
- BOGER, R.H., et al. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is elevated in monkeys with hyperhomocyst(e)inemia or hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v. 20, p. 1557-1564, 2000.
- de BREE, A. et al. Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev*, v. 54, p. 599-618, 2002.
- EBERHARDT, R.T., et al. Endothelial dysfunction in a murine model of mild hyperhomocyst(e)inemia. *J Clin Invest*, v. 106, p. 483-491, 2000.
- DURAND, P., et al. Impaired Homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. *Laboratory Investigation*, v. 81, n.5, p. 645-672, 2001.
- JARA-PRADO, A.; SANTAMARIA-delANGEL, A. Homocisteína: um nuevo factor de riesgo para desarrollar enfermedades vasculares. *Arch Neurociencia*, v. 7, p. 43-50, 2002.

- LENTZ, S.R., et al. Vascular Dysfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocyst(e)inemia. *J Clin Invest*, v. 98, p. 24-29, 1996.
- LENTZ, S.R., et al. Folate dependence of hyperhomocyst(e)inemia and endothelial dysfunction in cystathionine β-synthase-deficient mice. *Am J Physiol*, v. 279, p. H970-H975, 2000.
- LIM, U.; CASSANO, P.A. Homocysteine and blood pressure in the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Epidemiol*, v. 156, p. 1105-1113, 2002.
- MALINOW, M. R.; BOSTON, A. G.; KRAUSS, R. M. Homocysteine, diet and cardiovascular diseases. *Circulation*, v. 99, p. 178-182, 1999.
- NONAKA, H., et al. Taurine prevents the decrease in expression and secretion of extracellular superoxide dismutase induced by homocysteine: amelioration of homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress by taurine. *Circulation*, v. 104, p. 1165-1170, 2001.
- PODDAR, R., et al. Homocysteine induces expresión and secretion of Monocyte Chemoattractant Protein-1 and Interleukin-8 in human aortic endothelial cells. *Circulation*, v. 103, p. 2717-2723, 2001.
- REFSUN, H. et al. Facts and Recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clinical Chemistry*, v. 50, p. 13-32, 2004.
- RIDDEL, L. J. et al. Homocysteine levels in healthy New Zealanders and those with vascular disease. *New Zealand Medical Journal*, v. 112, p. 438-442, 1999.
- ROSINI, N.; MACHADO, M.J. Níveis de homocisteína sérica em pacientes atendidos no Laboratório Verner Willrich em Brusque – SC. *NewsLab*, n. 46, p. 188-200, 2001.
- STANGER, O. et al. DACH-LIGA Homocystein (German, Austrian and Swiss Homocysteine Society): Consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: guidelines and recommendations. *Clin Chem Lab Med*, v. 41, n. 11, p. 1392-1403, 2003.
- STUHLINGER, J.D. et al. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation*, v. 104, p. 2569-2575, 2001.
- UELAND, P.M. et al. The controversy over homocysteine and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, v. 72, p.324- 332, 2000.
- van GULDENER, c.; NANAYAKKARA, P.W.; STEHOVER, C.D. Homocysteine and Blood pressure. *Curr Hypertens R*, v. 5, n. 1, p. 26-31, 2003.
- WALD, D.S.; LAW, M.; MORRIS, J.K. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a metaanalysis. *Br Med J*, v. 325, p. 1202-1208, 2002.
- YAMAMOTO, M.; HARA, H.; ADACHI, T. Effects of homocysteine on the binding of extracellular-superoxide dismutase to the endothelial cell surface. *FEBS Lett*, v. 486, p. 150-162, 2000.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Rua Hercílio Luz, 117
CEP. 88350-300 - Brusque - SC

33º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 6º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

04 a 08 de junho de 2006

Local:

Estação Embratel Convention Center - Curitiba - PR

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

PRÊMIO LABTEST

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

- 1) O Prêmio LABTEST é promovido pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - SBAC, com o patrocínio da LABTEST Diagnóstica Ltda;
- 2) O Prêmio será no valor correspondente a 1.500 dólares americanos, na data da outorga, além de diploma alusivo;
- 3) O Prêmio será entregue na solenidade programada pela SBAC nos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas - CBAC.

II - DOS OBJETIVOS

O Prêmio LABTEST tem por objetivos;

- 1) Estimular o desenvolvimento de pesquisas na área de química clínica no País; e
- 2) Premiar o melhor trabalho sobre otimização e validação de métodos diagnósticos em química clínica inscrito e apresentado no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, com vistas a melhoria técnica do Laboratório Clínico.

III - DA PARTICIPAÇÃO

- 1) Poderão concorrer ao Prêmio, todos os trabalhos inscritos e apresentados no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas;
- 2) Para concorrer ao Prêmio, os autores deverão remeter à Secretaria da SBAC, até 30 dias antes do Congresso, 05 (cinco) cópias em papel do trabalho original completo e uma cópia em disquete ou CD (linguagem Word for Windows), atendendo às normas de publicação da Revista Brasileira de Análises Clínicas contendo: introdução (com objetivo definido do trabalho) material e métodos, resultados, discussão, conclusão, bibliografia, resumo em português, summary em inglês, palavras chaves (unitermos) e key words (uniterms).
- 3) Os trabalhos concorrentes deverão ser escritos em português e ser originais, ainda não publicados nem comprometidos para publicação em qualquer Revista Científica da Especialidade;
- 4) O trabalho premiado será obrigatoriamente publicado na íntegra, com exclusividade, na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 5) Os demais trabalhos selecionados pela Comissão Julgadora para concorrer ao Prêmio LABTEST poderão ser publicados na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 6) O não atendimento aos itens 1 à 3 desqualifica o trabalho e/ou o recebimento do Prêmio.

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

- 1) A Comissão Julgadora será composta de pelo menos 05 (cinco) membros nomeados pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, sendo um o Presidente;
- 2) A composição da Comissão Julgadora será divulgada pela SBAC nos Programas oficiais dos CBAC;
- 3) A Comissão Julgadora selecionará os 03 (três) melhores trabalhos apresentados, outorgando a um deles o Prêmio LABTEST, e aos outros 02 (dois), será outorgado um diploma de Menção Honrosa;
- 4) A decisão da Comissão Julgadora é soberana e irrecorrível.

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

- 1) O Prêmio LABTEST é indivisível e será conferido a apenas um trabalho, ficando a inteiro critério dos autores seu eventual rateio;
- 2) O Trabalho concorrente ao Prêmio Labtest obrigatoriamente, deve ser apresentado na sessão de Temas livres por um dos autores regularmente inscrito no Congresso;
- 3) Caso a Comissão Julgadora dos Prêmios decidir não premiar nenhum dos trabalhos apresentados para concorrer ao prêmio em virtude de não atingir os objetivos de prêmios, o valor deste será revertido para pagamento dos anúncios da empresa promotora publicados na RBAC, no SBAC Jornal e divulgados no site da SBAC.
- 4) Os casos omissos serão resolvidos pela Diretoria da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, ouvida a Comissão Julgadora.

Rio de Janeiro, 30 de dezembro de 2004.

Dr. Ulisses Tuma
Presidente

Informações:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio LABTEST

Rua Vicente Licínio, 95 • Tijuca • 20270-902 • Rio de Janeiro • RJ

Prevalência do polimorfismo G1793A da metilenotetra-hidrofolato redutase em idosos – Itajaí, (SC)

Prevalence of *methfr* G1793A polymorphism in elderly– Itajaí, (SC)

Darlene Camati Persuhn¹, Daniela Sackl², Thaísa Lara Schütz² & Sandra Soares Melo³

RESUMO - Mutações no gene da enzima 5,10-metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR), envolvida no metabolismo da homocisteína vêm sendo associadas à hiperhomocisteinemia e possivelmente como fator de risco para doenças vasculares. O objetivo do presente trabalho foi determinar o genótipo do polimorfismo G1793A da enzima MTHFR em 55 idosos internos no Asilo Dom Bosco (Itajaí/ SC). Foram coletados 5,0 mL de sangue periférico, após jejum de 8 horas para a extração do DNA. A presença da mutação G1793A da MTHFR foi determinada através da amplificação de um fragmento do gene da enzima pela Reação em Cadeia da polimerase (PCR). A digestão do fragmento obtido com a enzima *Bsr*I, resultou em perfil de restrição que permitiu definir o genótipo dos pacientes. A análise molecular revelou que 2 pacientes (3,64%) apresentaram genótipo heterozigoto (GA); enquanto que os 53 restantes (96,36%) foram classificados como homozigotos normais (GG). Dentre os 55 idosos analisados, nenhum apresentou o genótipo homozigoto alterado (AA). Este dado é compatível com a baixa frequência do alelo A nesta população (1,8%). Mais estudos precisam ser realizados a fim de determinar a importância deste polimorfismo como fator de risco para doenças vasculares.

PALAVRAS-CHAVE - idosos, MTHFR, G1793A

SUMMARY - 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene (*MTHFR*) is involved in homocysteine metabolism. *MTHFR* mutations have been associated to hiperhomocysteinemia and vascular disease risk factor. The objective of this work was to determinate the *MTHFR* G1793A genotype in 55 elderly interned at Asilo Dom Bosco, Itajaí-SC. After 8 hours fasting, 5.0 mL of peripheral blood were collected and submitted to DNA extraction. *MTHFR* G1793A polymorphism was detected by amplification of a gene fragment using Polymerase Chain Reaction (PCR). *Bsr*I digestion resulted in electrophoresis profile that allowed defining the genotype. Molecular analysis revealed that 2 patients (3.64%) were heterozygote (GA) and 53 (96.36%) were normal homozygote (GG). None altered homozygote (AA) was found. This result is compatible with low allele frequency found in this population (1.8%). More efforts are necessary to determinate the importance of this polymorphism as vascular disease risk factor.

KEYWORDS - elderly, *MTHFR*, G1793A

INTRODUÇÃO

A homocisteína (Fig. 1) é um pequeno aminoácido sulfadrílico que ocupa posição reguladora central no metabolismo da metionina. O plasma possui formas reduzidas (1%) e oxidadas (98 a 99%) do aminoácido, sendo que de 80 a 90% da forma oxidada se encontra ligada à metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR), uma importante enzima no metabolismo da homocisteína (BRUGADA; MARIAN, 1997). Este aminoácido é metabolizado por duas vias, a remetilação e transsulfuração. A via de remetilação depende da enzima metionina sintase que utiliza a vitamina B12 como cofator. O 5-metiltetrahidrofolato é doador de metil nesta reação, e a MTHFR é um catalisador no processo de remetilação de folato. Com o excesso de metionina, a homocisteína entra na via da transsulfuração, na qual a homocisteína reage com a serina em reação catalisada pela cistationina sintetase, vitamina B6 dependente, gerando cistationina que é subsequentemente hidrolisada para cisteína conforme apresentado na figura 2 (DEVLIN, 1998).

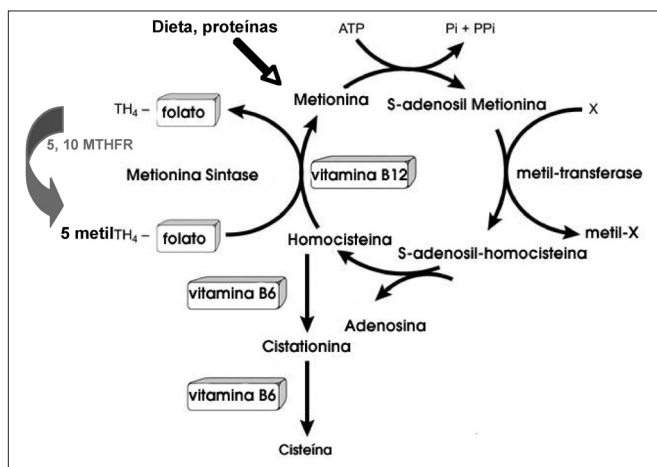
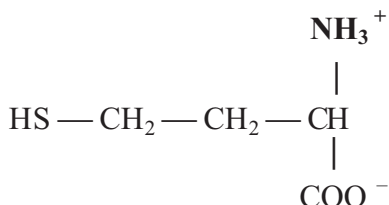


Figura 2. Metabolismo da homocisteína.

TH4 folato – tetrahidrofolato

MTHFR – metilenotetrahidrofolato redutase

ATP – adenosina trifosfato

PPI - pirofosfato inorgânico resultante da hidrólise do ATP

Pi – grupamento fosfato inorgânico

Fonte: Adaptado de Rodriguez (2003).

A homocisteína pode lesar as células endoteliais ou irregular sua função anticoagulante. Estudos sustentam que mesmo uma pequena elevação nos níveis de homocisteína resulta em aumento da ocorrência de doenças vasculares (CECIL, 2001). A homocisteína em excesso pode gerar a

Recebido em 14/01/2005

Aprovado em 14/11/2005

Projeto executado no laboratório de Biologia Molecular do CCS/ Núcleo de Investigação Químico-Farmacêuticas / NiqFar - UNIVALI-Itajaí/SC com colaboração do Grupo de Investigação em Alimentos e Nutrição – GIAN – UNIVALI-Balneário Camboriú/SC.

¹Professora dos Cursos de Farmácia e Medicina – UNIVALI

²Aluna do Curso de Farmácia – UNIVALI

³Professora do Curso de Nutrição – UNIVALI

formação de homocisteína tiolactona que é um intermediário muito reativo e modifica grupamentos amino livres da LDL, fazendo com que estas partículas se agreguem, sendo fagocitadas por macrófagos. A homocisteína também pode produzir a lipoperoxidação e agregação plaquetária, resultando em fibrose e calcificação das placas ateroscleróticas (DEVLIN, 1998).

Os fatores envolvidos no aumento da homocisteína podem ser: idade, sexo, etnia, níveis enzimáticos de metionina sintetase, MTHFR e cistationina redutase, deficiência de vitaminas do complexo B, tabagismo, alcoolismo e sedentarismo (CECIL, 2001).

A 5,10-metilenotetrahidrofolato redutase catalisa a redução da 5,10-metilenotetrahidrofolato para 5-metilenotetrahidrofolato. A última é a forma predominante do folato e é a doadora de carbono para a remetilização da homocisteína para metionina (Fig. 2). Mutações nos genes da MTHFR poderiam reduzir sua atividade enzimática, resultando na metilação inadequada da homocisteína e causar hiperhomocisteinemia, assim como, complicações vasculares (BRUGADA; MARIAN, 1997).

O gene que codifica a enzima foi mapeado no cromossomo 1, região 1p 36.3 e apresenta 11 éxons que variam de 102 a 432 pares de base em extensão. O cDNA contém 6099 nucleotídeos e a proteína resultante de sua tradução apresenta 656 aminoácidos. A molécula apresenta-se na forma de homodímero com massa molecular total aproxima da 150kD (GOYETTE *et al*, 1994 GOYETTE *et al*, 1998).

O polimorfismo C667T no gene da MTHFR, resulta na substituição de uma alanina por uma valina na posição 226 na proteína e foi descrita em 1995 por Frosst e colaboradores e tem sido amplamente estudado quanto à sua implicação enquanto fator de risco genético para doenças vasculares. Entretanto, as conclusões são ainda controversas ((KLUIJTMANS *et al*, 1996; BRUGADA; MARIAN, 1997; ARRUDA *et al.*, 1997).

A segunda mutação no gene da MTHFR, que consiste na transição de A para C no nucleotídeo 1298, resultando na alteração de códon de glutamato para alanina foi descrita posteriormente (VAN DER PUT *et al*, 1998; WEISBERG *et al*, 1998). Assim como a mutação C677T, esta também resulta em uma redução da atividade enzimática, que é mais pronunciada em indivíduos homozigotos que heterozigotos. Entretanto, tem sido menos associada a risco de doenças vasculares que a mutação C677T (FRIEDMAN *et al*, 1999).

Rady e colaboradores (2002) descreveram uma nova mutação no exon 11 deste gene através de rastreamento por análises de SSCP e posteriormente sequenciamento automatizado dos fragmentos polimórficos. A mutação ocorre na posição 1793 em que ocorre substituição de G por A resultando na alteração da tradução de uma arginina por glutamina. Os autores relatam ainda a prevalência deste alelo em diferentes populações étnicas, revelando uma certa variabilidade de frequência alélica conforme o grupo estudado.

Tendo em vista a importância de polimorfismos da MTHFR como possíveis fatores de risco para doenças vasculares e a ausência de estudos que investiguem a possível implicação da mutação G1793A, o objetivo deste trabalho foi determinar a frequência alélica deste polimorfismo em uma população de idosos institucionalizados, independentemente da condição física ou história mórbida pregressa.

MATERIAIS E MÉTODOS

População e amostragem

Participaram do estudo 55 pacientes idosos, internos no

Asilo Dom Bosco, em Itajaí (SC). Anteriormente à coleta de sangue para o estudo, todos os pacientes foram informados sobre a finalidade do mesmo e sobre os procedimentos experimentais que iriam participar, sendo solicitada a autorização da instituição para realização deste projeto em um termo de consentimento. O presente projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisas da Universidade do Vale do Itajaí, situada no Campus I, na cidade de Itajaí – SC.

METODOLOGIA

Coleta das amostras de sangue

Aproximadamente 5,0 mL de sangue periférico foram coletados dos idosos após jejum de 8 horas, em um tubo contendo EDTA para a extração do DNA e identificação da mutação gênica.

Extração do DNA genômico de leucócitos

A extração do DNA genômico de leucócitos foi realizada segundo o método descrito por Miller *et al*, 1988, com algumas modificações.

Foram coletados cerca de 5,0 mL de sangue periférico e transferidos para dois tubos de 15 mL estéreis (2,5 mL em cada tubo) com adição de tampão lise I gelado até completar o volume de 12,5 mL. Após homogeneizar, a solução foi centrifugada a 3200 rpm por 5 minutos, à + 4°C. O sobrenadante resultante foi desprezado e 2,25 mL de tampão lise II foi adicionado ao sedimento, para ressuspender o precipitado; seguido de 62,5 µL de SDS 10%. Após agitação vigorosa por 10 segundos à temperatura ambiente, 1,0 mL de NaCl 6 mol/L foi adicionado e a mistura resultante foi novamente agitada e centrifugada a 2600 rpm à temperatura ambiente por 5 minutos. O sobrenadante foi derramado em tubo limpo de 15 mL, evitando o pellet. Após adição de 3,5 mL de isopropanol absoluto o tubo foi fechado e a mistura foi realizada por inversão. O DNA precipitado foi removido para um tubo de eppendorf, retirando o excesso de isopropanol. O DNA foi lavado com 1,0 mL de etanol absoluto a 75%, centrifugado a 5000 rpm, por 5 minutos. Este procedimento foi repetido e o excesso de etanol foi removido cuidadosamente. O DNA foi seco a temperatura ambiente e ressuspenso em 200µL de água milli-Q autoclavada para realização dos procedimentos descritos a seguir.

Diagnóstico da mutação G1793A da enzima MTHFR

A presença da mutação G1793A foi determinada através da amplificação de um fragmento do exon 11 do gene que codifica a enzima MTHFR pela reação em cadeia da polimerase (PCR-Polymerase Chain Reaction). Os primers utilizados foram: 5'CTCTGTGTGTGTGTGCATGTGTGCG3' e 5'GGGACAGGAGTGGCTCCAACGCAGG3'. Os parâmetros utilizados na reação foram: uma etapa inicial de 2 minutos a 94°C, quarenta ciclos de 1 minuto (desnaturação) a 94°C, 1 minuto (anelamento) a 66°C e 1 minuto (extensão) a 72°C. A reação sofreu uma etapa extra de extensão por 10 minutos, 72°C. Este processo gerou um fragmento de 310 pares de base.

O fragmento amplificado foi digerido com a enzima de restrição *BsrBI* (Biolabs ®) de acordo com as instruções do fabricante, seguida de eletroforese de gel de agarose à 1,5% (Gibco-BRL), corado com brometo de etídio, para visualização em transiluminador ultravioleta (Ultra Lum).

A digestão com a enzima *BsrBI* do fragmento de 310 pares de base resultou em duas bandas de 233 e 77 pares de base no caso do genótipo normal 1793GG enquanto que no

heterozigoto G1793A apareceram três bandas: 310, 233 e 77 pares de base. Na presença do genótipo mutante 1793AA, somente a banda de 310 pares de base seria visualizada, entretanto este estudo não detectou nenhum homozigoto alterado (RADY *et al.*, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram analisadas neste projeto amostras de 55 pacientes idosos internos no Asilo dom Bosco, Itajaí/ SC. Destes, 34 (62,96%) eram do sexo feminino, com idade média de 84 ± 8 anos (idades entre 71 e 102 anos) e 21 (37,03%) do sexo masculino, com idade média de 80 ± 10 anos (idades entre 61 e 96 anos).

Após a coleta de 5,0 mL de sangue periférico e isolamento do DNA cromossomal conforme descrito na metodologia, o fragmento de 310 pares de base que compreende o polimorfismo G1793A da MTHFR foi amplificado pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) a partir de todas as amostras. A digestão com a enzima *Bsr*BI revelou que 2 pacientes (3,64%) apresentaram bandas de 310, 233 e 77 pares de base, o que significa genótipo heterozigoto; enquanto que os 53 restantes (96,36%) não apresentaram o fragmento de 310 pares de base e foram portanto, classificados como homozigotos normais (Fig. 3).

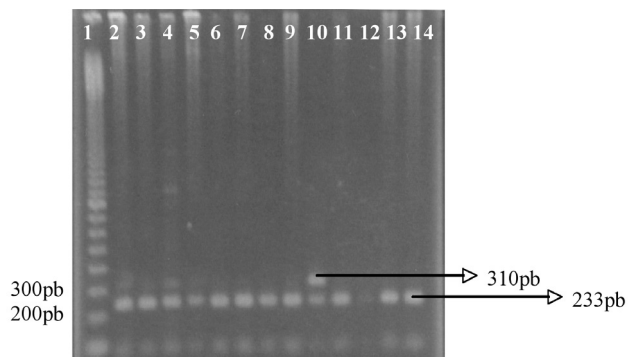


Figura 3. Eletroforese em gel de agarose dos produtos de PCR digeridos com *Bsr*BI. A linha 1 representa o marcador de 100 pares de base comercial. Estão representados os fragmentos de 310 e 233 pares de base. Os pacientes considerados homozigotos normais foram aqueles que apresentaram somente a banda de 233 pares de base (linhas 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13 e 14) e heterozigotos aqueles que apresentaram as bandas de 310 e 233 pares de base (linha 10).

Na literatura existe apenas um estudo realizado sobre a mutação G1793A desenvolvido por RADY *et al* (2002). As etnias envolvidas foram Hispânicos (n total = 95), Afro-americanos (n total = 97), Judeus Ashkenazi (n total = 117) e Caucasianos (n total = 159). Verificou-se que 2,6% (n = 3) dos Judeus Askenazi, 6,2% (n = 6) dos Afro-americanos, 11,6% (n = 11) dos Hispânicos e 12,6% (n = 20) dos Caucasianos eram heterozigotos. A incidência do polimorfismo verificada por RADY *et al* (2002) foi mais baixa entre os Judeus e Afro-americanos e maior nas duas outras etnias. Os dados genotípicos relacionados ao polimorfismo G1793A determinados na população em estudo foram comparados aos observados por RADY *et al* (2002), conforme dados apresentados (Tabela 1).

Tabela 1
Distribuição genotípica e frequência alélica do polimorfismo G1793A

Genótipo MTHFR G1793A	Judeus Ashkenazi* (%) (n = 117)	Afro-americanos* (%) (n = 97)	Caucasianos* (%) (n = 159)	Hispânicos* (%) (n = 95)	Idosos estudados neste trabalho (%) (n=55)
Homozigoto	0,0 (n = 0)	0,0 (n = 0)	0,6 (n = 1)	0,0 (n = 0)	0,0 (n=0)
Heterozigoto	2,6 (n=3)	6,2 (n = 6)	12,6 (n = 20)	11,6 (n = 11)	3,64 (n=02)
Normal	97,4 (n=114)	93,8 (n = 91)	86,8 (n = 138)	88,4 (n = 84)	96,36 (n=53)
Frequência alélica A (%)	1,3 (3/234)	3,1 (6/194)	6,9 (22/318)	5,8 (11/190)	1,8 (2/110)
Frequência alélica G (%)	98,7 (231/234)	96,9 (182/194)	93,1 (276/318)	94,2 (168/190)	98,2 (108/110)

* RADY, *et al*, 2002

Na população estudada neste trabalho 74% dos indivíduos eram de etnia caucasiana. Entretanto, a frequência de heterozigotos encontrada na etnia caucasiana, no estudo realizado por RADY e colaboradores (2002), foi a mais expressiva (12,6%) e difere de maneira bastante evidente do presente trabalho. Conforme mostrado (Tabela 1), dentre os idosos estudados, a frequência encontrada do alelo A foi de apenas 1,8%, e surpreendentemente, um dos pacientes encontrado como heterozigoto pertence à etnia afro-americana. Dentre os representantes desta etnia no estudo anterior, a frequência alélica havia sido inferior àquela encontrada em caucasianos.

A porcentagem de heterozigotos encontrada neste trabalho (3,64%) foi semelhante à de judeus (2,6%) entretanto mostrou-se inferior à identificada em caucasianos (6,2%), afro-americanos (12,6%) e hispânicos (11,6%) estudados por RADY *et al* (2002).

O genótipo homozigoto (AA) foi praticamente ausente nas populações estudadas, tendo sido encontrado somente um indivíduo homozigoto dentre os 155 caucasianos estudados por RADY *et al* (2002). Dentre os 55 idosos analisados, nenhum apresentou este genótipo. Este dado revela que o alelo A não é prevalente o suficiente para ser encontrado em homozigose.

A baixa frequência do alelo A na população inviabilizou a obtenção de dois grupos genotípicos para que se pudessem estabelecer comparações quanto a aspectos clínicos e laboratoriais. Seria necessário estudar uma população maior a fim de encontrar um número expressivo de portadores do polimorfismo.

Este é o primeiro trabalho que reporta a prevalência deste polimorfismo em população brasileira. Há necessidade de mais estudos a fim de contribuir com o conhecimento a respeito deste polimorfismo como possível fator de risco para doenças vasculares.

AGRADECIMENTOS

À direção do Asilo Dom Bosco, ao médico geriatra Dr. Esmael Tarcílio Linhares e à Enfermeira Sônia pela colaboração em viabilizar realização do projeto na instituição. À Roseli Bernadete Weber Pinto pelo auxílio nas coletas de sangue.

REFERÊNCIAS

- ARRUDA, V. R.; ZUBEN, P. M.; CHIAPARINI, L. C.; ANNICHINO-BIZZACCHI, J. M.; COSTA, F. F. The mutation Ala677?Val in the methylene tetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis.

- Thromb and Haemost, v. 77, n. 5, p. 818-821, 1997.
- BRUGADA, R.; MARIAN, A.J. A common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase gene is not a major risk of coronary artery disease or myocardial infarction. *Atherosclerosis*, s.l., v. 128, p. 107-112, 1997.
- CECIL, R. L. *Medicina Interna Básica*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- DEVLIN, M. T. *Manual de Bioquímica com Correlações Clínicas*. São Paulo: Edgard Blücher, 2003
- FRIEDMAN, G. et al. A common mutation A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene, association with plasma total homocysteine and folate concentrations. *Journal of Nutrition*, s.l., v. 129, p. 1656-1661, 1999.
- FROSST, P. et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genetics*, s.l., v. 10, p. 111-113, 1995.
- GOYETTE, P. et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nature Genetics*, v. 7, n. 2, p.195-200, 1994.
- GOYETTE, P.; Pai, A.; Milos, R.; Frosst, P.; Tran, P.; Chen, Z.; Chan, M.; Rozen, R. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mammalian Genome*, v.9, p. 652-656, 1998.
- KLUITJMANS, L. A. et al. Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular disease. *American Journal of Human Genetics*, s.l., v. 58, p. 35-41, 1996.
- MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from nucleated cell. *Nucleic Acids Research*, s.l., v. 16, p. 1215, 1988.
- RADY, P.L. et al. Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and methionine synthase reductase (MTRR) in ethnic populations in Texas; a report of a novel MTHFR polymorphic site, G1798A. *American Journal of Medical Genetics*, s.l., v. 107, p.162-168, 2002.
- RODRIGUEZ G. O. B. Homocisteína e doenças cardíaco-vasculares. *Bioquímica na rede*, v. 3, mai 2003. Disponível em <<http://www.qca.ibilce.unesp.br/BNR/BNR03-2003.html>>. Acesso em 30 nov 2004.
- VAN DER PUT, N. M. et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neuraltube defects. *American Journal of Human Genetics*, s.l., v. 62, p. 1044-1051, 1998.
- WEISBERG, I. et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Molecular Genetics and Metabolism*, s.l., v. 64, p.169-172, 1998.
-
- ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA
Dra Darlene Camati Persuhn
Rua Alexandre Fleming, 176
CEP. 88303-030 - Itajaí - SC



33º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 6º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

04 a 08 de junho de 2006

**Local:
Estação Embratel Convention Center - Curitiba - PR**

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Infecção do trato urinário: comparação entre o perfil de susceptibilidade e a terapia empírica com antimicrobianos

Urinary tract infection: comparison between susceptibility profile and empirical therapy with antimicrobials

Larissa Bail¹; Carmen Antônia Sanches Ito² & Luís Antônio Esmerino³

RESUMO - A infecção do trato urinário (ITU) é uma das doenças infecciosas mais comuns, perdendo em frequência somente para as infecções respiratórias. No presente trabalho foram estudadas 106 uroculturas positivas de pacientes hospitalizados na Santa Casa de Misericórdia de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. As bactérias isoladas foram classificadas, segundo sua origem: 68 (64,25%) em comunitária e 38 (35,8%) em hospitalar. Enterobactérias predominaram entre os isolados (82,1%). A susceptibilidade geral foi de 89,8% nitrofurantoína, 84% norfloxacina, 82% gentamicina, 75,3% cefalotina, 63,4% sulfazotrim e 45,7% ampicilina. Dos 94 prontuários estudados em 80,8% (76/94) constavam antibióticos prescritos. Em 62,8% (59/94) deles iniciou-se o tratamento empiricamente e em 18% (17/94) aguardou-se o resultado do antibiograma para a tomada de decisão. Na comparação entre o perfil de susceptibilidade, observado no antibiograma, com as prescrições empíricas, observou-se que em 81,4% (48/59) dos prontuários os antimicrobianos prescritos apresentaram sensibilidade no antibiograma e em 18,6% (11/59) estavam resistentes. O antibiótico mais prescrito empiricamente foi a norfloxacina, onde as *Escherichia coli* isoladas de infecções comunitárias e hospitalares apresentaram taxa de resistência de 11,6% e 15,8%, respectivamente. Outras Enterobactérias apresentaram taxas de 5,9% e 12,5%. As taxas de resistência inferiores a 20%, entre os principais agentes, mostram que a norfloxacina é adequada para ser utilizada como terapia empírica.

PALAVRAS-CHAVE - Antimicrobianos, enterobactérias, fluoroquinolonas, infecção urinária, terapia empírica.

SUMMARY - Urinary tract infection (UTI) is one of the most common infectious diseases, second in frequency only to respiratory infections. In the present work, 106 positive urine cultures were studied from patients hospitalized at Santa Casa de Misericórdia de Ponta Grossa, Paraná, Brazil. The isolated bacteria were classified, according to their source: 68 (64.2%) into community and 38 (35.8%) hospital bacteria. Enterobacteria were the most common among the isolates (82.1%). General susceptibility was 89.8% to nitrofurantoin, 84% to norfloxacin, 82% to gentamicin, 75.3% to cephalotin, 63.4% to sulfamethoxazole/trimethoprim, and 45.7% to ampicillin. Among the 94 patient records studied, 80.8% (76/94) indicated that antibiotics had been prescribed. In 62.8% (59/94) of them, treatment was started empirically, and in 18% (17/94) a decision was made only upon receiving the antibiogram result. In the comparison between the susceptibility profile revealed by the antibiogram and the empirical prescriptions, it was verified that the antibiogram showed sensitivity to the prescribed antimicrobials in 81.4% (48/59) of the patient records, while 18.6% (11/59) indicated resistance. The most frequently prescribed antibiotic was norfloxacin wherein *Escherichia coli* isolated from community and hospital infections showed resistance rates of 11.6% and 15.8%, respectively. Other Enterobacteria showed rates of 5.9% and 12.5%. Resistance rates lower than 20% among the most important agents indicated that norfloxacin is suitable to be used as empirical therapy.

KEYWORDS - Antimicrobials, empirical therapy, enterobacteria, fluoroquinolones, UTI.

INTRODUÇÃO

As infecções do trato urinário (ITUs) podem ser classificadas em quatro grandes grupos: uretrites, cistites, síndrome uretral aguda e pielonefrites. Infecções não complicadas ocorrem primariamente em mulheres sadias e ocasionalmente em crianças, jovens e adultos do sexo masculino. Geralmente essas infecções respondem prontamente aos agentes antimicrobianos aos quais o agente etiológico é susceptível. As infecções mais complicadas ocorrem em ambos os sexos e na maioria das vezes são mais difíceis de serem tratadas⁵.

Um aumento na resistência a numerosos antimicrobianos tem sido relatado nos últimos anos. Betalactâmicos e quinolonas são os grupos de fármacos de maior preocupação. Para esses fármacos, o aumento da resistência tem sido maior nos pacientes hospitalizados que nos ambulatoriais²². Por outro lado, o modelo de resistência dos patógenos, causadores de infecções urinárias, frente aos agentes antimicrobianos comuns está em constante mudança e isso deve

ser levado em consideração na escolha da estratégia para o tratamento¹³. Muitos casos de ITUs em hospitais são inicialmente tratados empiricamente baseados na frequência dos patógenos, na taxa de resistência antimicrobiana local e na severidade da doença. O uso de terapia empírica inadequada foi encontrado como sendo causa de mortalidade em pacientes com bacteremia originada no trato urinário³. Além disso, alguns estudos mostram que a terapia empírica inadequada pode levar ao uso desnecessário de antimicrobianos¹⁶. Conseqüentemente, a criação de um sistema de monitoramento da resistência bacteriana vem a ser um importante passo na detecção da resistência, ajudando na seleção da terapia empírica local mais eficaz e permitindo a implementação de medidas de prevenção⁶. Pesquisadores na Holanda observaram um aumento na resistência de amoxicilina e sulfametoxazol/trimetoprima em isolados de *Escherichia coli*, o principal responsável por infecções no trato urinário, em pacientes ambulatoriais. Contudo, com o passar dos anos, fluoroquinolonas começaram a serem prescritas mais frequentemente para o tratamento dessas infecções. Isso levou a um aumento das

Recebido em 26/01/2005

Aprovado em 14/11/2005

Trabalho realizado no Laboratório Alpha da Santa Casa de Misericórdia de Ponta Grossa, PR.

Monografia no Curso de Especialização em Farmácia de Dispensação da Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG

¹Farmacêutica-Bioquímica do Setor de Microbiologia do Laboratório Alpha; aluna do Curso de Especialização em Farmácia de Dispensação da UEPG.

²Farmacêutica-Bioquímica do Setor de Microbiologia do Laboratório Alpha.

³Professor Adjunto do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG.

infecções urinárias causadas por *E. coli* resistente as fluoroquinolonas, dificultando seu tratamento^{28,7}.

Um estudo realizado no Canadá avaliou a resistência bacteriana de isolados do trato urinário de pacientes ambulatoriais. Os dados mostraram que a nitrofurantoína e a ciprofloxacina são mais eficientes, que o sulfametoxazol/trimetoprima e ampicilina, na terapia empírica das ITUs. Isso sugeriu uma reavaliação na terapêutica de primeira e segunda linha nas ITUs³².

Na Espanha, um estudo de casos de cistite aguda em mulheres mostrou cepas de *E. coli* resistentes as quinolonas (18,4% para ciprofloxacina; 19,6% para norfloxacina e 22,3% para o ácido pipemídico). Excelente susceptibilidade foi observada para amoxicilina-clavulanato e aminoglicosídeos. Alta resistência foi observada para a ampicilina (54,7%) e sulfametoxazol/trimetoprima (35,8%) e baixos índices para agentes como fosfomicina (2,8%) e nitrofurantoína (3,3%)²³. Os dados mostraram a importância de se conhecer os índices de susceptibilidade local com a finalidade de se controlar a emergência da resistência, reduzir os custos e instituir uma antibioticoterapia empírica com mais segurança.

A resistência às quinolonas em ITUs tem sido relatada também em outros países. Na Índia foram relatadas altas taxas de resistência, sendo: 62,4% para o ácido nalidíxico, 52,5% para a norfloxacina e 51,5% para a ciprofloxacina¹¹. Já no Brasil, em Salvador, um estudo sobre a resistência das principais bactérias isoladas em uroculturas mostrou também um aumento na frequência de resistência para a norfloxacina e ciprofloxacina com o passar dos anos¹⁴.

Considerando a frequência da infecção urinária e a grande diferença no perfil de susceptibilidade das bactérias nos diversos locais onde foram estudadas, torna-se necessário o conhecimento da prevalência e do padrão de resistência antimicrobiana local. Devemos, com isso, incentivar que os laboratórios forneçam um registro bacteriológico preciso de isolados urinários e seus respectivos antibiogramas para servirem como guia no tratamento empírico de infecções do trato urinário, além de contribuírem no controle da resistência bacteriana.

O monitoramento da microbiota patogênica que predomina em determinada região, bem como seu comportamento diante dos antimicrobianos utilizados, é de extrema importância para o clínico no acompanhamento terapêutico dos pacientes e também para o farmacêutico que deve participar na aquisição do antimicrobiano e na orientação ao paciente.

Talvez, em farmácias ambulatoriais a interação entre o clínico, o farmacêutico e o microbiologista seja dificultada pela separação física dos mesmos. Porém, em ambiente hospitalar, o farmacêutico faz parte de uma equipe interdisciplinar onde o laboratório de bacteriologia, a administração hospitalar, CCIH (Comissão de Controle de Infecção Hospitalar) e o serviço de infectologia, atuam em conjunto no sentido de fazer a melhor escolha para a terapia antimicrobiana. Tal situação é vivenciada na Santa Casa de Ponta Grossa, Paraná, onde as equipes citadas acima atuam de maneira sinérgica na análise dos antimicrobianos.

Uma frequente observação do comportamento antimicrobiano frente às bactérias pode ajudar não somente a prever o futuro da resistência bacteriana, mas também a patogenicidade desses isolados, sua distribuição geográfica e a avaliação da terapêutica adequada. Partindo dessa circunstância, optou-se por fazer um estudo onde essa situação pudesse ser evidenciada. Dessa forma, esse trabalho tem como objetivo estabelecer um perfil de susceptibi-

lidade antimicrobiana para as bactérias isoladas de pacientes com infecção do trato urinário e comparar os resultados dos antibiogramas com as prescrições de antimicrobianos.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Foram estudadas 106 uroculturas positivas, de forma retrospectiva, referentes ao ano de 2001, de pacientes hospitalizados na Santa Casa de Misericórdia de Ponta Grossa. Os critérios utilizados para classificar uma urocultura como positiva foram: crescimento $\geq 10^5$ UFC/mL de um ou no máximo dois microorganismos, para os quais tenha sido realizado o antibiograma, conforme registro nos arquivos do Setor de Microbiologia do Laboratório Alpha de Ponta Grossa, Paraná, Brasil.

Procedimento

As informações coletadas foram: nome do paciente, ala de internamento, sexo, tipo de infecção, data da coleta, uropatógeno e teste de sensibilidade aos antimicrobianos. A classificação do tipo de infecção (comunitária ou hospitalar) é rotineiramente realizada pela CCIH, seguindo critérios específicos do serviço.

Os uropatógenos foram recuperados em ágar Cled e MacConkey após semeadura semiquantitativa em placa utilizando uma alça calibrada de 0,001 mL²⁰. O ágar Cled permite o crescimento de todos os microrganismos potencialmente patogênicos presentes na urina e o ágar MacConkey permite o crescimento seletivo de bacilos gram-negativos diversos. A identificação das bactérias foi realizada através de provas bioquímicas específicas. Nesse estudo essas bactérias foram classificadas em três grupos: Enterobactérias; Bacilos Gram-negativos não fermentadores da glicose e Cocos Gram-positivos.

Para cada microrganismo isolado, determinou-se sua susceptibilidade através do método de disco difusão em ágar Mueller-Hinton. Os níveis de resistência foram relatados usando os padrões do Nacional Committee For Clinical Laboratory Standards (NCCLS)¹⁹, onde os isolados moderadamente sensíveis foram considerados resistentes.

Além dos dados referentes às bactérias, foram analisados os prontuários para se determinar a prescrição de antimicrobianos. Cabe salientar que na Santa Casa, para a prescrição de antimicrobianos, é necessária a realização de exames microbiológicos dos prováveis sítios de infecção e os antimicrobianos testados no laboratório de microbiologia são os padronizados para uso no hospital.

RESULTADOS

Das 106 uroculturas positivas com antibiograma analisadas, as mulheres foram responsáveis por 70% das amostras. A frequência encontrada por ala de internamento mostrou que 13% dos pacientes estavam internados na unidade de terapia intensiva (UTI), 17% na maternidade e 70% encontravam-se internados entre as alas cirúrgicas e clínicas.

Os agentes responsáveis pelas uroculturas foram separados em três grandes grupos. Observou-se que as Enterobactérias predominaram entre os isolados com 82,1%. Esse grupo foi subdividido em dois grupos: *Escherichia coli* (58,6%) e o grupo das outras Enterobactérias (23,5%). Cocos Gram-positivos e bacilos Gram-negativos não fermentadores da glicose foram recuperados em taxas de 10,4% e 7,5%, respectivamente (Tabela I).

Tabela I
Divisão dos uropatógenos em infecção comunitária e hospitalar.

UROPATÓGENO	INFECÇÃO COMUNITÁRIA		INFECÇÃO HOSPITALAR		TOTAL GERAL	
	n	%	n	%	n	%
ENTEROBACTÉRIAS	60	88,2	27	71	87	82,1
<i>Escherichia coli</i>	43	63,2	19	50	62	58,6
Outras Enterobactérias	17	16,0	8	29,6	25	23,5
<i>Enterobacter sp.</i>	8	11,8	4	10,5	12	11,4
<i>Proteus sp.</i>	3	4,4	0	0	3	2,8
<i>Serratia sp.</i>	2	2,9	1	2,6	3	2,8
<i>Klebsiella sp.</i>	2	2,9	2	5,3	4	3,8
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	1	2,6	1	0,9
<i>Pantoea agglomerans</i>	1	1,5	0	0	1	0,9
<i>Morganella morganii</i>	1	1,5	0	0	1	0,9
BGN NÃO FERM ENTADORES DA GLICOSE	3	4,4	5	13,2	8	7,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	4,4	4	10,6	7	6,6
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	0	1	2,6	1	0,9
COCOS GRAM-POSITIVOS	5	7,4	6	15,8	11	10,4
<i>Staphylococcus sp.</i>	4	5,9	2	5,3	6	5,7
<i>Enterococcus sp.</i>	1	1,5	4	10,5	5	4,7
TOTAL	68	100	38	100	106	100

As bactérias isoladas foram ainda divididas, segundo sua origem, em comunitária e hospitalar, dessas 68 (64,2%) foram considerados de origem comunitária e 38 (35,8%) hospitalar. Nas uroculturas de origem comunitária predominaram entre as bactérias isoladas *Escherichia coli* (63,2%) e *Enterobacter sp.* (11,8%). Nas uroculturas de origem hospitalar predominaram *Escherichia coli* (50%), *Enterobacter sp.* (10,5%), *Pseudomonas aeruginosa* (10,5%) e *Enterococcus sp.* (10,5%). A Tabela I mostra a frequência dos uropatógenos isolados nas infecções classificadas como comunitária e hospitalar.

A susceptibilidade das bactérias foi testada frente a um grupo de antimicrobianos previamente selecionados. Nesse estudo apresentamos apenas o resultado do antibiograma para os antimicrobianos considerados de primeira escolha (ampicilina, cefalotina, sulfazotrim, nitrofurantoína, norfloxacin e gentamicina).

Os perfis de susceptibilidade para os isolados de infecções comunitárias e hospitalares estão demonstrados nas Tabelas II e III, respectivamente. A Fig. 1 compara o perfil de susceptibilidade entre esses dois grupos e a Tabela V mostra o perfil de susceptibilidade geral dos antimicrobianos frente a todos os microrganismos.

No estudo das prescrições dos antimicrobianos dos 106 prontuários procurados foram encontrados 94. Desses, em 80,8% (76/94) constavam antibióticos prescritos. Em 62,8% (59/94) deles iniciou-se o tratamento empiricamente e em 18% (17/94) aguardou-se o resultado do antibiograma para a tomada de decisão.

O estudo das 59 prescrições empíricas mostrou que a norfloxacin e a cefalotina foram os antimicrobianos prescritos com maior frequência. Norfloxacin foi prescrita para 37,3% (22/59) dos pacientes e a cefalotina em 30,5% (18/59). Na comparação entre o perfil de susceptibilidade, observado no antibiograma, com as prescrições empíricas dos antimicrobianos, observou-se que em 81,4% (48/59) das uroculturas os antimicrobianos prescritos apresentaram sensibilidade no antibiograma e em 18,6% (11/59) os antimicrobianos prescritos estavam resistentes no antibiograma. A Tabela V mostra a avaliação das prescrições empíricas após o resultado do antibiograma.

Tabela II
Percentual de susceptibilidade de diferentes microrganismos isolados de infecções urinárias comunitárias frente a Ampicilina (AMP), Cefalotina (CEF), Sulfazotrim (SUT), Nitrofurantoína (NIT), Norfloxacin (NOR) e Gentamicina (GEN).

MICRORGANISMOS	AMP	CEF	SUT	NIT	NOR	GEN
	n - %	n - %	n - %	n - %	n - %	n - %
<i>Escherichia coli</i>	21- 48,8	32-74,4	24-55,8	41-95,3	38-88,4	38-88,4
Outras Enterobactérias	07-41,2	14-82,3	14-82,3	12-70,6	16-94,1	16-94,1
<i>P. aeruginosa</i>	...	...	...	...	01-33,3	01-33,3
<i>Staphylococcus sp.</i>	...	04-100	03-75	04-100	03-75	...
<i>Enterococcus sp.</i>	01-100	...	...	01-100	01-100	01-100
TOTAL	29-47,5	50-78,1	41-64,0	58-90,6	59-86,8	56-87,5

(n) representa o número de cepas sensíveis
(...) não testado para essa bactéria

Tabela III
Percentual de susceptibilidade de diferentes microrganismos isolados de infecções urinárias hospitalares frente a Ampicilina (AMP), Cefalotina (CEF), Sulfazotrim (SUT), Nitrofurantoína (NIT), Norfloxacin (NOR) e Gentamicina (GEN).

MICRORGANISMOS	AMP	CEF	SUT	NIT	NOR	GEN
	n - %	n - %	n - %	n - %	n - %	n - %
<i>Escherichia coli</i>	8-42,1	15-78,8	13-68,4	18-94,7	16-84,2	15-78,9
Outras Enterobactérias	1-12,5	3-37,5	4-50	6-75	7-87,5	4-50
<i>P. aeruginosa</i>	...	...	...	...	3-75	2-50
<i>A. baumannii</i>	...	...	...	...	0-0	0-0
<i>Staphylococcus sp.</i>	...	2-100	1-50	2-100	1-50	...
<i>Enterococcus sp.</i>	4-100	...	...	4-100	3-75	4-100
TOTAL	13-41,9	20-70,0	18-62,1	30-90,1	30-78,9	25-69,4

(n) representa o número de cepas sensíveis
(...) não testado para essa bactéria

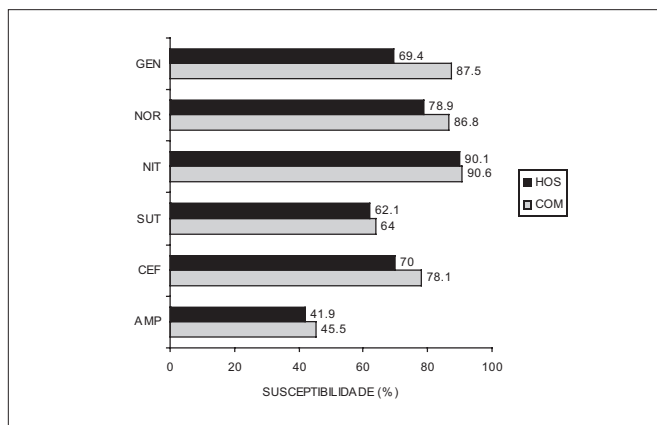


Figura 1 – Comparação entre o perfil de susceptibilidade dos microrganismos isolados de infecções urinárias comunitárias (COM) e hospitalares (HOS) frente a Ampicilina (AMP), Cefalotina (CEF), Sulfazotrim (SUT), Nitrofurantoína (NIT), Norfloxacin (NOR) e Gentamicina (GEN).

Tabela IV
Percentual de susceptibilidade geral dos uropatógenos frente aos antimicrobianos: Ampicilina (AMP), Cefalotina (CEF), Sulfazotrim (SUT), Nitrofurantoína (NIT), Norfloxacin (NOR) e Gentamicina (GEN).

MICRORGANISMOS	AMP	CEF	SUT	NIT	NOR	GEN
Testados (Sensíveis)	92(42)	93(70)	93(59)	98(88)	106(89)	100(82)
Sensibilidade (%)	45,7	75,3	63,4	89,8	84	82

Tabela V
Avaliação das prescrições empíricas após o resultado do antibiograma.

ANTIMICROBIANOS	PRESCRIÇÕES EMPÍRICAS					
	SENSÍVEL ANTIBIOGRAMA		RESISTENTES ANTIBIOGRAMA		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
Norfloxacina	17	28,8	5	8,4	22	37,3
Cefalotina	14	23,7	4	6,8	18	30,5
Sulfametoxazol/Trimetoprima	4	6,8	0	0	4	6,8
Gentamicina	3	5,1	1	1,7	4	6,8
Ceftriaxona	2	3,4	1	1,7	3	5,1
Amicacina	2	3,4	0	0	2	3,4
Ciprofloxacina	1	1,7	0	0	1	1,7
Outros	5	8,5	0	0	5	8,4
TOTAL	48	81,4	11	18,6	59	100

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A infecção do trato urinário é uma patologia freqüente na clínica médica, sendo uma das causas que mais leva os pacientes à procura de auxílio médico^{29,8,26}. Acomete principalmente as mulheres^{30,2,9,25}, o que não variou no presente estudo, onde 70% dos casos foram assim representados.

No que se refere à etiologia, as Enterobactérias classicamente são as responsáveis pela maioria dos casos^{30,2,1,6}. No nosso estudo as Enterobactérias foram recuperadas em 82,1% das uroculturas e a *Escherichia coli* foi à bactéria mais freqüentemente isolada (58,6%). Entretanto, entre as infecções hospitalares a taxa de freqüência foi menor, 50% contra 63,2% das comunitárias. Resultados semelhantes foram observados por Weber *et al.* (1997)³⁰ e Berdichevski *et al.* (1998)².

No grupo das outras Enterobactérias (23,6% dos isolados), *Enterobacter sp.* foi a bactéria mais isolada, tanto nas infecções urinárias comunitárias (11,8%) quanto nas hospitalares (10,5%). *Enterococcus sp.* e *Pseudomonas aeruginosa* foram recuperadas em uma taxa de ocorrência de 10,5% (Tabela I). Semelhante ao relatado na literatura, observou-se que esses dois agentes estão principalmente envolvidos em infecções hospitalares^{24,6,28}.

As bactérias isoladas nas uroculturas foram testadas frente a uma série de antimicrobianos padronizados previamente, pelo infectologista, a farmácia hospitalar, a CCIH e o laboratório de microbiologia, com base no NCCLS¹⁹. Para a escolha dos antimicrobianos leva-se em consideração a eficácia clínica frente a um determinado grupo de bactérias, a prevalência de resistência local e os custos. Esta seleção tem sido útil no controle de infecção, tanto comunitária como hospitalar. Por outro lado, estudos não recomendam a utilização de um determinado fármaco na terapia empírica quando a sua taxa de resistência local for superior a 20%¹⁸. Nesse aspecto o perfil de susceptibilidade local é muito importante.

O padrão de susceptibilidade para *Escherichia coli*, principal agente isolado, mostrou que para os isolados comunitários a sensibilidade foi maior para os antimicrobianos nitrofurantoína (95,3%), norfloxacina (88,4%) e gentamicina (88,4%). As *E. coli* isoladas de infecções hospitalares apresentaram perfil semelhante às comunitárias, exceto para a gentamicina que foi inferior (78,9%). Como pode ser observado nas Tabelas II e III.

Quando o padrão de susceptibilidade das outras Enterobactérias foi analisado, observou-se que os isolados comunitários mostraram perfil de sensibilidade próximo da *E. coli*. Já os isolados de infecções hospitalares apresentaram susceptibilidade inferior em relação tanto às outras Enterobactérias comunitárias, quanto as *E. coli*, como pode ser observado nas Tabelas II e III.

A avaliação do modelo de resistência das Enterobactérias urinárias revelou que *E. coli* é ainda mais sensível aos fár-

macos antimicrobianos que outros representantes desse grupo. Resultado semelhante foi encontrado por Weber *et al.* (1997)³⁰. Cabe salientar que algumas bactérias desse grupo apresentam resistência intrínseca para alguns antimicrobianos, como é o caso do *Proteus mirabilis* para a nitrofurantoína, da *Klebsiella pneumoniae* para ampicilina e da resistência de algumas espécies de *Enterobacter* para a cefalotina e cefoxitina²⁰.

Nosso estudo mostrou que as bactérias isoladas de infecções hospitalares são mais resistentes aos antimicrobianos que as comunitárias. A susceptibilidade menor entre as cepas hospitalares foi mais bem observada com os antimicrobianos, gentamicina, norfloxacina e cefalotina, como pode ser observado na Fig. 1. Estudo sobre a freqüência aumentada de resistência entre cepas hospitalares tem demonstrado que essa ocorre, provavelmente, devido ao resultado da seleção de cepas resistentes da microbiota endógena dos pacientes e não devido à transmissão de cepas hospitalares resistentes²².

A ampicilina mostrou os piores índices de susceptibilidade geral (45,7%), indicando que esse antibiótico deve ser utilizado somente frente ao resultado do antibiograma. A baixa susceptibilidade da *E. coli* para ampicilina, tanto comunitária (48,8%) quanto hospitalar (42,1%), tem sido relatada também em outros estudos¹³ e, existe uma co-seleção de resistência para ampicilina e trimetoprima que é explicado pela existência de plasmídeos transmissíveis em *E. coli* que codificam resistência para ambos¹⁷.

Resistência ao sulfametoxazol/trimetoprima tem aumentado em todo o mundo, mesmo nas infecções comunitárias^{9,10}, limitando seu uso como antibiótico empírico. Desde o final da década de 80 já se observava uma notável diminuição na susceptibilidade dos uropatógenos para esses antimicrobianos. Em 1997, Winstanley *et al.*³¹, relataram uma taxa média de resistência para as enterobactérias ao sulfametoxazol/trimetoprima de 30%. No Brasil em 1998, um estudo mostrou que 34,25% dessa mesma classe de microrganismos estavam resistentes². Quando avaliados uropatógenos na América Latina pelo programa SENTRY, a freqüência de resistência foi de 42,6%⁶. Em nosso estudo, a taxa de resistência ao sulfazotrim para todas as bactérias foi de 36,6%, tornando-o inapropriado para terapia empírica.

A nitrofurantoína foi o antimicrobiano que mostrou a maior taxa de susceptibilidade geral (89,8%). Para *E. coli* a susceptibilidade foi de aproximadamente 95%. Esse fármaco geralmente é considerado uma alternativa para o tratamento das infecções urinárias não complicadas⁹.

Apesar da boa susceptibilidade das bactérias de origem comunitária, *Escherichia coli* (88,4%) e outras Enterobactérias (94,1%), para a gentamicina, as de origem hospitalar apresentaram níveis mais baixos de susceptibilidade, *Escherichia coli* (78,9%) e outras Enterobactérias (50%). O aumento da resistência aos aminoglicosídeos em bacilos Gram-negativos é preocupante, uma vez que esses fármacos são uma boa opção para o tratamento de infecções do trato urinário³⁰.

A susceptibilidade geral moderada dos microrganismos isolados frente a cefalotina (70% comunitária e 76,1% hospitalar) é também preocupante, pois esse antibiótico está entre os fármacos de primeira escolha para o tratamento das cistites em gestantes, onde o uso de antibióticos é limitado e a presença de infecção é constante²¹.

A norfloxacina apresentou uma das melhores taxas de susceptibilidade para *Escherichia coli* (88,4%) e outras Enterobactérias (94,1%) de origem comunitária (Tabela II) e uma discreta taxa inferior entre os isolados hospitalares

(*Escherichia coli* 84,2% e outras Enterobactérias 87,5%), como pode ser observado na Tabela III. A resistência para as fluoroquinolonas tem aumentado, possivelmente pelo uso intenso desses fármacos no tratamento das infecções urinárias^{15,4,6,27}.

Outros microrganismos isolados nas uroculturas como os cocos Gram-positivos (*Staphylococcus* e *Enterococcus*), 11% dos isolados, apresentaram boa sensibilidade para os antimicrobianos e adicionalmente observamos que todas as cepas isoladas foram sensíveis para oxacilina e vancomicina. Já os bacilos Gram-negativos não fermentadores da glicose apresentaram baixa sensibilidade (Tabela III) e adicionalmente apresentaram 100% de susceptibilidade para o imipenem. Entre esses últimos agentes, *Pseudomonas* e *Acinetobacter* são geralmente os mais frequentemente isolados nas infecções urinárias¹². Nesse estudo o baixo número de cepas recuperadas desses agentes não permitiu estabelecer uma comparação segura entre os isolados comunitários e hospitalares.

No estudo das prescrições dos antimicrobianos foram encontrados 94 prontuários referentes às culturas estudadas. A análise desses prontuários mostrou que em 80,8% (76/94) deles constavam antibióticos prescritos. A terapia empírica foi iniciada em 62,8% (59/94) dos casos. O antibiótico mais prescrito empiricamente foi a norfloxacina, onde as *Escherichia coli* isoladas de infecções comunitárias e hospitalares apresentaram taxa de resistência de 11,6% e 15,8%, respectivamente. Outras Enterobactérias apresentaram taxas de resistência de 5,9% e 12,5%, comunitária e hospitalar, respectivamente. Essas taxas de resistência inferiores a 20%, entre os principais agentes (Enterobactérias), mostram que esse antimicrobiano é adequado para ser utilizado como terapia empírica.

A cefalotina, por ser utilizada no tratamento de ITU em gestantes, foi o segundo antibiótico mais utilizado empiricamente (Tabela V). A nitrofurantoína seria outra opção terapêutica em situações onde há resistência as cefalosporinas de primeira geração²¹.

Após a comparação dos prontuários com os resultados dos exames bacteriológicos, podemos concluir que: i) as Enterobactérias foram recuperadas em 82,1% das uroculturas e a *Escherichia coli* em 58,6%; ii) a susceptibilidade geral das bactérias isoladas foi de 89,8% para a nitrofurantoína, 84% norfloxacina, 82% gentamicina, 75,3% cefalotina, 63,4% sulfazotrim e 45,7% ampicilina; iii) em 81,4% (48/59) das prescrições empíricas os antimicrobianos utilizados apresentaram susceptibilidade no antibiograma e em 18,6% (11/59) estavam resistentes; iv) o antibiótico mais prescrito empiricamente foi a norfloxacina e as taxas de resistência inferiores a 20%, entre as Enterobactérias, mostram que esse antimicrobiano é adequado para ser utilizado como terapia empírica. O estudo do predomínio da microbiota patogênica e o monitoramento do perfil de susceptibilidade em uma determinada região podem auxiliar clínicos e farmacêuticos, no acompanhamento terapêutico e na orientação dos pacientes.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Altayr Coelho de Andrade, do Laboratório Alpha. Aos membros da CCIH, representados na figura do Dr. César Roberto Busato e da enfermeira Maria Dagmar da Rocha Gaspar.

Ao Dr. Dalton Scarpin Gomes, diretor clínico da Santa Casa de Misericórdia de Ponta Grossa.

REFERÊNCIAS

1. Barrett, S.P.; Savage, M.A.; Rebec, M.P.; Guyot, A.; Andrews, N.; Shrimpton, S.B. Antibiotic sensitivity of bacteria associated with community-acquired urinary tract infection in Britain. *J Antimicrob Chemother.* v.44, n.3, p.359-65, 1999.
2. Berdichevski, R.H.; Zanardo, J.C.; Soibelman, M.; Antonello, I. Prevalência de uropatógenos e sua resistência aos antimicrobianos em uroculturas realizadas no Hospital São Lucas da PUCRS. *Rev AMRIGS.* v.42, n.3, p.137-42, 1998.
3. Bishara, J.; Leibovici, L.; Hummer, D.; Drucker, M.; Samra, Z.; Konisberger, H.; Pitlik, S. Five-year prospective study of bacteraemic urinary tract infection in a single institution. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* v.16, n.8, p.563-7, 1997.
4. Ena, J.; López-Perezagua, M.M.; Martínez-Peinado, C.; Cia-Barrio, M.A.; Ruiz-López, I. Emergence of ciprofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolates after widespread use of fluoroquinolones. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1998; 30, n.2, p.103-7, 1998.
5. Forbes, B.A.; Sahn, D.F.; Weissfeld, A.S. *Bailey Scott's Diagnostic Microbiology.* 10 ed. St. Louis, Mosby, 1998.
6. Gales, A. C.; Jones, R.N.; Gordon, K.A.; Sader, H.S.; Werner, W.W.; Mondell, L.B.; Michael, A.P.; Gary, V.D. and THE SENTRY STUDY GROUP LATIN AMERICA. Activity and spectrum of 22 antimicrobial agents tested against urinary tract infection pathogens in hospitalized patients in Latin America: report from the second year of the SENTRY antimicrobial surveillance program (1998). *J Antimicrob Chemother.* v.45, p.295-303, 2000.
7. Götttsch, W.; van Pelt, W.; Nagelkerke, N.; Hendrix, M.G.; Bulting, A.G.; Pettit, P.L.; Sabbe, L.J.; van Griethuysen, A.J.; Neeling, A.J. Increasing resistance to fluoroquinolones in *Escherichia coli* from urinary tract infections in the Netherlands. *J Antimicrob Chemother.* v. 46, n.2, p.223-8, 2000.
8. Gupta, K.; Hooton, T.M.; Roberts, P.L.; Stamm, W.E. Patient-initiated treatment of uncomplicated recurrent urinary tract infections in young women. *Ann Intern Med.* v.135, n.1, p.9-16, 2001.
9. Gupta, K.; Hooton, T.M.; Stamm, W.E. Increasing antimicrobial resistance and the management of uncomplicated community-acquired urinary tract infections. *Ann Intern Med.* v. 135, n.1, p.41-50, 2001.
10. Gupta, K.; Sahn, D.F.; Mayfield, D.; Stamm, W.E. Antimicrobial resistance among uropathogens that cause community-acquired urinary tract infections in women: a nationwide analysis. *Clin Infect Dis.* v.33, n.1, p.89-94, 2001.
11. Kapoor, H.; Aggarwal, P. Resistance to quinolones in pathogens causing urinary tract infections. *J Commun Dis.* v.29, n.3, p.263-7, 1997.
12. Kaushal, M.L.; Grover, P.S.; Gupta, M.L. Non-fermenters in urinary tract infection. *J. Assoc Physicians India.* v.46, n.9, p.798-800, 1998.
13. Khan, S.W.; Ahmed, A. Uropathogens and their susceptibility pattern: a retrospective analysis. *J Pak Med Assoc.* v.51, n.2, p.98-100, 2001.
14. Lopes, A.A.; Salgado, K.; Martelli, R.; Rocha, H. I. Aumento da frequência de resistência à norfloxacina e ciprofloxacina em bactérias isoladas em uroculturas. *Rev Assoc Med Bras.* v.44, n.3, p.196-200, 1998.
15. McCue, J.D. Rationale for the use of oral fluoroquinolones as empiric treatment of nursing home infections. *Arch Fam Med.* v.3, n.2, p.157-64, 1994.
16. McIsaac, W.J.; Low, D.E.; Biringer, A.; Pimlott, N.; Evans M.; Glazier, R. The impact of empirical management of acute cystitis on unnecessary antibiotic use. *Arch Intern Med.* v.162, n.5, p.600-5, 2002.
17. Magee, J.T.; Pritchaar, E.L.; Fitzgerald, K.A.; Dunstan, F.D.J.; Howard, A.J. Antibiotic prescribing and antibiotic resistance in community practice: retrospective study, 1996-1998. *B M J.* v.319, p.1239-40, 1999.
18. Naber, K.G. Treatment options for acute uncomplicated cystitis in adults. *J Antimicrob Chemother.* v.46, p.23-27, 2000.
19. NCCLS (NACIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standard: M2-A7. 7ed, Wayne, 2000.
20. Oplustil, C.A.; Zoccoli, C.M.; Tobouti, N.R.; Sinto, S.I. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. 1ed. São Paulo. Sarvier, 2000.
21. Ovalle, A.; Levancini, M. Urinary tract infections in pregnancy. *Curr Opin Urol.* v.11, n.1, p.55-9, 2001.
22. Perrin, M.; Donnio, P.Y.; Heurtin-Lecorre, C.; Travert, M.F.; Avril, M.F. Com-

- parative antimicrobial resistance and genomic diversity of *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections in the community and in hospitals. *J Hosp Infect.* v. 41, n.4, p.273-9, 1999.
23. Queipo Zaragoza, J.A.; Giménez Martí, M.J.; Diosdado Orquin, N.; Gómez-Ferrer Lozano, A.; Gobernado Serrano, M.; Jiménez Cruz, J.F. Current microbial sensitivity in our setting. *Actas Urol Esp.* v.25, n.8., p.567-72, 2001.
24. Ramos, H.; Silva, M. E. F.; Queiroz, M.O.; Coutinho, H.; Vilar, M.C.M.; Hatori, M. Terapêutica antimicrobiana empírica nas infecções do trato urinário de pacientes internados no Hospital das clínicas da UFPE baseada em dados de uroculturas. *An Fac Med Univ Fed Pernamb.* v. 44, n.1, p.53-55, 1999.
25. Raz, R.; Gennesin Y.; Wasser J.; Zmira, S.; Rosenfeld, S.; Rottensterich, E.; Stamm, W.E. Recurrent urinary tract infections in postmenopausal women. *Clin Infect Dis.* v.30, p.152-56.
26. Tice, A.D. Short-course therapy of acute cystitis: a brief review of therapeutic strategies. *J Antimicrob Chemother.* v.43, Suppl. A., p.85-93, 1999.
27. Thuong, M.; Shortgen F.; Zazempa V.; Girou E.; Soussy, C.J.; Brun-Buisson, C. Appropriate use of restricted antimicrobial agents in hospitals: the importance of empirical therapy and assisted re-evaluation. *J Antimicrob Chemother.* v.46, n.3, p.501-8, 2000.
28. Vromen, M.; van der Ven, A.J.; Knols, A.; Stobberingh, E.E. Antimicrobial resistance patterns in urinary isolates from nursing home residents. Fifteen years of data reviewed. *J Antimicrob Chemother.* v.44, n.1, p.113-6, 1999.
29. Warren, J.W.; Abrutyn, E.; Hebel, J.R.; Johnson, J.R.; Schaeffer, A.J.; Stamm, W.E. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Clin Infect Dis.* v.29, n.4, p.745-58, 1999.
30. Weber, G.; Riesengerg, K.; Schlaeffer, F.; Peled, N.; Borer, A.; Yagupsky, P. Changing trends in frequency and antimicrobial resistance of urinary pathogens in outpatient clinics and a hospital in Southern Israel, 1991-1995. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* v.16, n.11, p.834-8, 1997.
31. Winstanley, T.G.; Limb, D.I.; Eggington R.; Hancock, F. A 10 year survey of the antimicrobial susceptibility of urinary tract isolates in the UK: the Microbe Base project. *J Antimicrob Chemother.* v.40, n.4, p.591-4, 1997.
32. Zhanel, G.G.; Karlowsky, J.A.; Harding, G.K.; Carrie, A.; Mazzulli, T.; Low, D.E.; Hoban, D.J. A Canadian national surveillance study of urinary tract isolates from outpatients: comparison of the activities of trimethoprim-sulfamethoxazole, ampicillin, mecillinam, nitrofurantoin, and ciprofloxacin. The Canadian Urinary Isolate Study Group. *Antimicrob Agents Chemother.* v.44, n.4, p.1089-92, 2000.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Luís Antônio Esmerino
Universidade Estadual de Ponta Grossa
Campus de Uvaranas – Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
Av. Carlos Cavalcante, 47-48 sala 92
Ponta Grossa, PR – 80030.000
email: esmerino@uepg.br



33º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 6º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

04 a 08 de junho de 2006

Local:
Estação Embratel Convention Center - Curitiba - PR

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase: dados de prevalência em pacientes atendidos no Hospital Universitário Onofre Lopes, Natal – RN*

Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: prevalence in patients attended in Hospital Universitário Onofre Lopes, Natal - RN

Carlos Rômulo Filgueira Maurício¹, Ranieri Duarte Maia¹, Sílvia Maria Varela de Queiroz², Maria das Graças Moreira de Araújo², Rosinete Guedes Carvalho de Miranda² & Tereza Maria Dantas de Medeiros³

RESUMO - A glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD) desempenha um papel de fundamental importância no metabolismo eritrocitário, tanto na obtenção de energia a partir da glicose, quanto na sua proteção contra agentes oxidantes. A deficiência de G-6-PD é a anormalidade enzimática hereditária mais frequente e as manifestações clínicas mais comuns são hemólise induzida por fármacos e icterícia neonatal. Com a finalidade de identificar a prevalência da deficiência de G-6-PD foram avaliados no período de dezembro de 2002 a março de 2003, 569 indivíduos de ambos os sexos e faixa etária compreendida entre 1 e 70 anos, atendidos no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Onofre Lopes, Natal RN. A atividade da G-6-PD foi determinada pelo teste de redução da metahemoglobina (teste de Brewer) e as amostras que apresentaram atividade deficiente foram confirmadas mediante o teste de Brewer modificado para avaliação semiquantitativa. Foram identificados 20 deficientes (02 brancos e 18 pardos) representando uma prevalência de 3,5 % na amostra como um todo e 1,6 % e 4,3 % entre os brancos e pardos, respectivamente. Tendo em vista os resultados obtidos e considerando a importância do diagnóstico da deficiência de G-6-PD, torna-se relevante o reconhecimento de indivíduos deficientes em nossa população.

PALAVRAS-CHAVE - glicose-6-fosfato desidrogenase, teste de redução da metahemoglobina, eritroenzimopatia

SUMMARY - The G-6-PD plays an important role in the erythrocyte metabolism, as much in the gain of energy through glucose, as in your protection against oxidants agents. The G-6-PD deficiency is the most common known enzymopathy and the most common clinical manifestations are drug-induced hemolytic anemia and neonatal jaundice. To identify the prevalence of G-6-PD deficiency were analyzed 569 patients both sexes with age between 01 to 70 years old, in the period of December 2002 to March 2003, attended at Clinical Analysis Laboratory of Hospital Universitário Onofre Lopes, Natal - RN. The activity of G-6-PD was determined by the methemoglobin reduction test and Brewer's test modified to semi quantitative evaluation did the confirmation of the samples that presented deficient activity. Were identified 20 deficientes representing a prevalence of 3,5% in the group and 1,6% and 4,3% in white and mulattos, respectively. In view of the obtained results and considering the importance of the diagnosis of the G-6-PD deficiency, the recognition of deficient individuals in our population becomes considerable.

KEYWORDS - glucose-6-phosphate dehydrogenase, methemoglobin reduction test, enzymopathy

INTRODUÇÃO

A glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD) desempenha um papel de fundamental importância no metabolismo eritrocitário, tanto na obtenção de energia a partir da glicose, quanto na sua proteção contra agentes oxidantes. A G-6-PD cataliza a primeira reação da via da hexose monofosfato na qual a glicose-6-fosfato é oxidada a 6-fosfogluconolactona com a redução concomitante de NADP a NADPH. Portanto, é essencial na proteção da hemácia contra a ação de oxidantes por manter a glutatona no estado reduzido (Beutler, 1994).

A produção da G-6-PD no eritrócito humano é controlada por um gene localizado no braço longo do cromossomo X (região Xq 28) que consiste de 13 exons e 12 introns, com a região codificante dividida em 12 segmentos, variando de 38 a 236 pares de base. A sua caracterização bioquímica permitiu reconhecer mais de 400 variantes genéticas descritas por técnicas padronizadas, a maioria das quais com atividade deficiente (Luzzatto *et al.*, 2001).

De todas as variantes de G-6-PD com atividade deficiente, as que mostram maior importância pela sua frequência são: a variante africana (G-6-PD A-), amplamente disseminada

na África e entre afro-descendentes de todo o mundo e a variante mediterrânea (G-6-PD Mediterrânea), que é mais comumente encontrada em italianos, gregos, judeus orientais, árabes e persas (Beutler, 1991).

No Brasil, estudos realizados por diversos autores, mostram que 95% a 99% dos deficientes de G-6-PD apresentam a variante africana (G-6-PD A-) (Compri *et al.*, 2000; Garlip & Ramalho, 1988; Saad *et al.*, 1997).

A maioria dos indivíduos deficientes de G-6-PD são assintomáticos embora possam manifestar hemólise de graus variáveis quando expostos a alguns fatores do meio ambiente, como a naftalina e os nitritos voláteis ou, principalmente, quando fazem uso de medicamentos tais como analgésicos, antipiréticos, antimaláricos, antibacterianos sulfonamídicos e sulfônicos, entre outros (Ali, *et al.*, 1999; Beutler, 1994). As manifestações clínicas mais comuns são a icterícia neonatal e a anemia hemolítica aguda associada a fármacos, infecções ou ingestão de fava. Entretanto, os fármacos constituem os principais agentes que desencadeiam crises hemolíticas nos deficientes de G-6-PD (Meh-ta *et al.*, 2000).

A hemólise e a icterícia geralmente têm início dentro de 2 a 3 dias após a administração de uma determinada droga.

Recebido em 10/02/2005

Aprovado em 14/11/2005

*Trabalho realizado no Laboratório de Hematologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

¹Aluno concluinte do Curso de Farmácia - Habilitação Análises Clínicas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

²Farmacêutica Bioquímica - Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Onofre Lopes, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

³Prof. Adjunto da disciplina Hematologia Aplicada, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Existem alguns fatores que influenciam a susceptibilidade individual e a gravidade da hemólise oxidativa induzida por drogas. Entre eles destacam-se a dose, absorção, metabolismo e excreção da droga, bem como, o efeito da mesma ou de seu metabólito sobre a atividade enzimática. A integridade metabólica do eritrócito e o tipo de variante enzimática são fatores que também influenciam a susceptibilidade à hemólise oxidativa (Luzzatto *et al.*, 2001). Entre os diversos fármacos utilizados na clínica médica, a acetanilida, fenilhidrazina, furazolidona, sulfacetamida, sulfanilamida, sulfapiridina, sulfametoxazol, dapsona, tiazolsulfona, nitrofurantoina, ácido nalidíxico, fenazopiridina, azul de metileno, azul de toluidina, trinitrotolueno, nafataleno e primaquina devem ser evitados por deficientes de G-6-PD (Beutler, 1994; Luzzatto *et al.*, 2001; Mehta *et al.*, 2000).

A icterícia neonatal é uma complicação comum da deficiência de G-6-PD que se desenvolve tipicamente em recém-nascidos com um a quatro dias de vida. Na maioria dos casos, entretanto, a icterícia é adequadamente controlada por fototerapia. Alguns casos de icterícia neonatal são bastante graves podendo levar a danos neurológicos permanentes (Beutler, 1994; Luzzatto *et al.*, 2001).

O presente estudo teve como objetivo principal a determinação da prevalência da deficiência glicose - 6 - fosfato desidrogenase (G-6-PD) em pacientes atendidos no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Onofre Lopes.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de dezembro de 2002 a março de 2003 foram estudados 569 pacientes, de ambos os sexos, atendidos no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Onofre Lopes, que tinham solicitação de hemograma. Os pacientes avaliados eram provenientes da Grande Natal e de diversos municípios do interior do estado do Rio Grande do Norte. Todos os pacientes ou seus respectivos representantes legais assinaram o termo de consentimento consciente, de acordo com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, após serem informados sobre a realização do estudo.

A coleta das amostras foi realizada mediante punção venosa e o sangue colocado em tubos contendo anticoagulante (EDTA) na proporção de 1mg/mL de sangue. Todas as amostras foram submetidas às seguintes análises laboratoriais: hemograma e determinação da atividade da G-6-PD. O hemograma foi realizado através de contador automático de células Cell Dyn, modelo 3500. A determinação da atividade da G-6-PD foi determinada inicialmente pelo teste de redução da metahemoglobina (Brewer *et al.*, 1960). As amostras deficientes foram confirmadas através do teste de redução da metahemoglobina modificado para avaliação semiquantitativa (Severo *et al.*, 1985).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 569 pacientes estudados, 409 (71,9%) eram adultos e 160 (28,1%) eram crianças. Os adultos tinham idade compreendida entre 15 e 70 anos; foram consideradas crianças os que apresentaram idade inferior a 15 anos. Do total de indivíduos estudados, 123 eram brancos, 414 pardos e 32 eram de etnia negra. Com a metodologia utilizada foram identificados 20 deficientes de G-6-PD correspondendo a uma prevalência de 3,5% sendo 1,6% e 4,3% entre os brancos e pardos, respectivamente (Tabela 1).

Tabela I
Prevalência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD) em 569 indivíduos estudados de acordo com o grupo étnico

Grupo étnico	Total de amostras analisadas	Atividade de G-6-PD			
		Normal		Deficiente	
		N	%	N	%
Branco	123	121	98,4	02	1,6
Pardo	414	396	95,7	18	4,3
Negro	32	32	100	-	-
Total	569	549	96,5	20	3,5

Resultados semelhantes em nossa população foram observados por Sena & Ramalho (1986) e Medeiros *et al.* (1992) em estudos realizados em adultos do sexo masculino evidenciando uma prevalência de 2,64% e 3,30%, respectivamente.

Tabela II
Prevalência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD) em 569 indivíduos estudados de acordo com o sexo

Sexo	Total de amostras analisadas	Atividade de G-6-PD			
		Normal		Deficiente	
		N	%	N	%
Masculino	195	184	94,4	11	5,6
Feminino	354	345	97,5	09	2,5
Total	569	529	96,5	20	3,5

A Tabela 2 apresenta a prevalência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD) de acordo com o sexo. Entre os 195 indivíduos do sexo masculino 11 (5,6%) eram deficientes, enquanto que, entre os 354 do sexo feminino, 9 (2,5%) apresentaram a eritroenzimopatia.

A deficiência de G-6-PD é transmitida como caráter recessivo ligado ao cromossomo X. Desse modo, é mais frequente em indivíduos do sexo masculino do que no sexo feminino (Ramalho, 1980).

Estudos populacionais têm mostrado variações significativas da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em diferentes grupos étnicos. Nas populações negróides e caucasoídes brasileiras, a frequência de deficientes em G-6-PD alcança proporções consideráveis (Compri *et al.*, 2000; Ramalho & Beiguelman, 1976; Garlipp & Ramalho, 1988).

Estudos realizados em diversas regiões brasileiras evidenciaram uma prevalência da deficiência enzimática variando de 1,7% a 4,97% (Compri *et al.*, 2000, Garlipp & Ramalho, 1988; Lirio *et al.*, 1980, Ramalho & Beiguelman, 1976, Ramalho, 1980).

A atividade enzimática da glicose-6-fosfato desidrogenase, determinada pelo teste de Brewer modificado (Severo *et al.*, 1985), mostrou valores médios de $35,4 \pm 21,2\%$ para os 20 indivíduos deficientes e $90,5 \pm 5,8\%$ em 20 indivíduos com atividade enzimática normal (Tabela 3).

Os valores de referência para a atividade enzimática de G-6-PD estabelecidos para esse teste, variam de 70 a 100% (indivíduos não deficientes) e abaixo de 70% para indivíduos deficientes.

Tabela III
Valores médios da atividade enzimática da glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD) entre 20 indivíduos deficientes e 25 indivíduos com atividade normal determinada pelo teste de redução da metahemoglobina modificado para avaliação semiquantitativa

	Atividade de G-6-PD (%)	
	Normal	Deficiente
Média	90,5	35,4
Desvio padrão	5,8	21,2
n	25	20

O teste de redução da metahemoglobina (teste de Brewer) trata-se de um método simples que utiliza reagentes de fácil aquisição. Apesar de ser um método qualitativo, oferece resultados satisfatórios e tem sido utilizado amplamente por diversos autores em triagem populacional inclusive, na detecção da hiperbilirrubinemia neonatal (Compri *et al.*, 2000; Garlipp & Ramalho, 1988; Ramalho, 1980; Sanpavat *et al.*, 2001).

Tendo em vista os resultados obtidos e considerando a importância do diagnóstico da deficiência de G-6-PD, torna-se relevante o reconhecimento de indivíduos deficientes em nossa população, uma vez que podem manifestar hemólise de graus variáveis quando expostos à ação de fármacos tais como dapsona, sulfanilamida, sulfacetamida, fenazopiridina entre outros.

REFERÊNCIAS

1. Ali, N.A., Al-Naama, L.M., Khalid, L.O. Haemolytic potential of three chemotherapeutic agents and aspirin in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *East Mediterr. Health J.* v.5, n.3, p.457-464, 1999.
2. Beutler, E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *N. Engl. J. Med.*, v.324, n.3, p.169-174, 1991.
3. Beutler, E. G6PD Deficiency. *Blood*, v.84, n.11, p.3613-3636, 1994.
4. Brewer, G.J., Tarlov, A.R., Alving, A.S. Methaemoglobin reduction test. A new sample in vitro test for identifying primaquine-sensitivity. *Bull. WHO*, v.22, p.633, 1960.
5. Compri, M.B., Saad, T.O., Ramalho, A.S. Investigação genético-epidemiológica

e molecular da deficiência de G-6-PD em uma comunidade brasileira. *Cad. Saúde Pública*, v.16, n.2, p.335-342, 2000.

6. Garlipp, C.R., Ramalho, A.S. Aspectos clínicos e laboratoriais da deficiência de G-6-PD em recém-nascidos brasileiros. *Rev. Bras. Genét.*, v.11, n.3, p.717-728, 1988.
7. Lirio, A.S., López, K.C., Bernardo, M.A. Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em doadores de sangue do estado do Rio de Janeiro. *Folia Médica*, v.80, n.5, p.705-707, 1980.
8. Luzzatto, L., Mehta, A., Vulliamy, T.J. Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency. In: Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S., Valle, D. eds. *The metabolic and molecular bases of inherited diseases*. 8. ed. New York: McGraw-Hill, 2001. v.III.
9. Medeiros, T.M.D., Abreu, A., Albuquerque, L.M.M., Lins, M.R.S. Hemoglobinas anormais e deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em Natal, RN. *Rev. Bras. Patol. Clin.*, v.28, p.43-48, 1992.
10. Mehta, A., Mason, P.J., Vulliamy, T.J. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Baillière's Clin. Haematol.*, v.13, n.1, p.21-38, 2000.
11. Ramalho, A.S., Beiguelman, B. Deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G-6-PD) em doadores de sangue brasileiros. *F. Méd.*, v.73, p.281, 1976.
12. Ramalho, A. S. Deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G-6-PD) em recém-nascidos brasileiros. *F. Méd.*, v.81, n.6, p.603-606, 1980.
13. Saad, S.T., Salles, T.S., Carvalho, M.H., Costa, F.F. Molecular characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase in Brazil. *Hum. Hered.*, v.47, n.1, p.17-21, 1997.
14. Sanpavat, S., Kittikalayawong, A., Nuchprayoon, I., Ungbumnet, W. The value of methemoglobin reduction test as a screening test for neonatal glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *J. Med. Assoc. Thai.*, v.84 (suppl. 1), p.S91-S98, 2001.
15. Sena, L.L.A., Ramalho, A.S. Deficiência de desidrogenase de 6-fosfato glicose (G6PD): dados de prevalência e de morbidade na região de Natal, RN. *Rev. Assoc. Méd. Bras.*, v.32, p.17-20, 1986.
16. Severo, L.G., Nogueira, D. M., Hoxter, G. Determinação da atividade da Glicose - 6- fosfato desidrogenase(G-6-PD) em eritrócitos humanos. *Laes & Haes*, v.13, n.1, p.22-30, 1985.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Tereza Maria Dantas de Medeiros
 Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
 Universidade Federal do Rio Grande do Norte
 Rua General Cordeiro de Farias, s/n - Petrópolis, Natal RN CEP 59010-180
 e-mail: tdantas@ufrnet.br

33º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 6º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

04 a 08 de junho de 2006

Local:

Estação Embratel Convention Center - Curitiba - PR

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Revista Brasileira de Análises Clínicas

AOS COLABORADORES

A REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS tem por finalidade a divulgação de trabalhos relacionados com as atividades em laboratório de análises clínicas.

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

Todos os artigos destinados à Revista deverão ser redigidos na ortografia oficial, podendo ser apresentados:

- datilografados: duas vias de cada, espaço duplo em folhas de papel ofício, numeradas no ângulo superior direito e com margens de 3 cm de ambos os lados.
- computador: disquete com o programa utilizado além de duas cópias de seu conteúdo.

As ilustrações (fotografias, desenhos, gráficos, fórmulas, equações, mapas e diagramas), quadros e tabelas poderão ser apresentados à parte, ou feitos através de programas eletrônicos com o respectivo disquete e devidamente identificados, assinalando-se, no texto, onde deverão ser inseridos.

No preparo do texto, os autores deverão obedecer à seguinte ordem:

Título* em português
Título em inglês
Nome do autor ou autores (dados pessoais no rodapé)
Resumo em Português - Unitermos
Resumo em inglês - Key Words
Introdução
Material e métodos
Resultados
Discussão
Agradecimentos
Referências bibliográficas

*Um asterisco após o título, é colocado com o objetivo de mencionar o local (Universidade, Departamento, Laboratório, etc.) em que se realizou a pesquisa e, se for o caso, as fontes financiadoras).

TÍTULO - Deverá ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho.

RESUMOS - Deverão ser concisos e claros, pondo em relevo de forma precisa os fatos essenciais encontrados e as conclusões obtidas; serem redigidos de forma impessoal e conterem no máximo 200 palavras.

INTRODUÇÃO - Deverá estabelecer com clareza o objetivo do trabalho e sua relação com outros trabalhos do mesmo setor. Extensas revisões da literatura devem ser evitadas, devendo ser substituídas por referências aos trabalhos ou fontes mais recentes, onde tais revisões tenham sido apresentadas.

MATERIAL E MÉTODOS - Deverão ser descritos de modo breve, porém o suficiente para possibilitar a repetição do trabalho; métodos e técnicas já publicados, a menos que tenham sido modificados substancialmente, deverão ser apenas referidos por citação.

RESULTADOS - Deverão ser apresentados com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal e acompanhados de gráficos, tabelas, etc. simples e ilustrativos.

DISCUSSÃO - Deve ficar restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, evitando-se hipóteses baseadas nos mesmos.

AGRADECIMENTOS - Devem ser inseridos no final do trabalho, antes das referências.

O estilo editorial da Revista segue, em linhas gerais, o *Style Manual of Biological Journals* (Conference of Biological Editors, Committee on Form and Style. *Style Manual of Biological Journals*, 2nd. Washington, American Institute of Biological Sciences, 1974).

As nomenclaturas, abreviações e unidades bioquímicas e físico-químicas devem seguir as adotadas pelo *Handbook of Biochemistry* (Sober, H. A. - *Handbook of Biochemistry*, 2nd. ed. Cleveland, Chemical Rubber Co., 1977, Sec. A4-A100). *Handbook of Chemistry and Physics* (West R. C. - *Handbook of Chemistry and Physics*, 53rd. ed. Cleveland Chemical Rubber Co., 1972-1973), e, essencialmente, o recomendado pela WHO através da *Resolution WHA 30.30 adopted by thirtieth World Health Assembly, May 1977; Système International d'Unités: use of SI units in medicine e da publicação The SI for Health Professions*. WHO, 1977.

As atividades enzimáticas devem ser expressas em unidades internacionais e seguir o adotado em *Enzyme Nomenclature* (Enzyme Nomenclature, Elsevier Publishing Co., 1965).

A nomenclatura dos microrganismos deve obedecer aos critérios adotados pelo Manual de Bergey (Breed, H. S.; Murray, E. G. D. & Smith, N. R. - *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th ed. Baltimore, Williams & Wilkins Co., 1957).

REFERÊNCIAS - Deverão ser apresentados somente os trabalhos consultados ligados ao assunto e citados no texto. Citações de "resumos", "dados não publicados", "comunicações pessoais" ou "no prelo" poderão ser adequadamente mencionados no texto, mas não serão aceitos como referências.

No texto - As referências no texto podem citar o sobrenome do autor e ano ou o n° na referência.

Na bibliografia - a relação das referências deve ser numerada e colocada em ordem alfabética dos sobrenomes dos autores, e seguir o disposto para artigos ou livros:

a) artigos - sobrenome do autor (ou autores), seguido das iniciais; título do trabalho; título do periódico (abreviaturas de acordo com o World Scientific Periodicals); volume (sublinhado) e número do volume, se houver; número da página inicial, número da página final, ano.

b) livros - sobrenome do autor (ou autores ou editor responsável), seguido das iniciais; título do livro; edição, tradução (se for o caso); local de publicação, editora, ano. Número de páginas, se um volume, ou número de volumes, se mais. No caso de consulta de páginas particulares, então citá-las.

- Ilustrações: deverão ser citadas no texto como "Fig.", numeradas e vir acompanhadas de legendas explicativas. Os desenhos, gráficos, fórmulas, equações, mapas e diagramas poderão ser feitos com nanquim preta, em papel vegetal e elaboradas de modo a poderem ser reduzidas a 1/2 ou 1/3 do tamanho original, sem perda de nitidez ou legibilidade. Para as curvas é conveniente indicar os pontos por meio de círculos, triângulos, etc., afim de que, na redução não fiquem menores que um milímetro. O computador também poderá ser utilizado para esses itens, devendo serem acompanhados de provas impressas e respectivo disquete com o programa utilizado.

- Fotografias: deverão ser apresentadas em envelope à parte: serem nítidas e de bom contraste, feitas em papel brilhante e trazer no verso o nome do autor, título do artigo e número com que irão figurar no texto.

- Quadros e tabelas: deverão ser numeradas em arábico e apresentadas datilografadas, desenhadas em papel vegetal ou feitas em computador, acompanhadas de provas impressas e disquete com o programa utilizado. Cabeçalhos e legendas devem ser suficientemente claros e compreensíveis, sem necessidade de consultas ao texto. São permitidas notas explicativas de rodapé indicadas por asteriscos, mas não descrições das experiências. Seguir o quanto possível, as normas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Nenhuma casa, em quadros ou tabelas, deverá ficar vazia; a ausência de dados será representada por:

- quando o fenômeno não existe;

0; 0,0 quando o fenômeno existe, não atingindo o seu valor, porém, o adotado no quadro;

... quando o dado não foi apurado, não implicando, porém, afirmar ou não a existência do fenômeno.

Quando o fenômeno for mensurável, deverá ser expresso de maneira a somente figurarem os algarismos significativos.

DA PUBLICAÇÃO

1. A publicação de artigos na Revista está condicionada à aprovação de pelo menos dois pareceres de membros do Conselho de Redação.
2. Os originais, os disquetes de trabalhos aceitos para publicação não serão devolvidos aos autores.
3. No caso de haver mais de um autor, deverá ser expressamente indicado o responsável pela publicação. Na ausência dessa informação, o primeiro será considerado o responsável.
4. Os trabalhos em língua estrangeira serão submetidos a um revisor competente (pelo que será cobrada uma taxa dos autores) e devolvidos se a redação for inadequada.
5. Para correspondência ou contatos posteriores, os autores responsáveis devem fornecer os seus endereços, telefone, fax ou E-mail (quando houver).
6. A reprodução dos trabalhos publicados na Revista será permitida quando citada a origem da publicação:

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Rua Vicente Licínio, 99 - Tel.: 0XX(21)2187-0800 - Fax:

0XX(21)2187-0805 - Rio de Janeiro - RJ - 20270-902

Home page: HYPERLINK <http://www.sbac.org.br>

www.sbac.org.br - e-mail: HYPERLINK

<mailto:geral@sbac.org.br> teac@sbac.org.br

Eficácia da Terapia Antirretroviral e Avaliação da Apoptose em Pacientes Tratados em Diferentes Estágios da Infecção pelo HIV*

Efficacy of the Antiretroviral Therapy and Evaluation of Apoptosis in Patient Treated Differents Periods of the Infection for HIV

Joel da Cunha¹; Giovana L. Baggio¹; Odilon S. Júnior¹; Júlio C. Verdi³; Arício Treitinger² & Celso Spada²

RESUMO - O uso da Terapia Antirretroviral (TARV) em indivíduos HIV+, reverte o quadro imunológico caracterizado pela depleção de linfócitos CD4+, e o aumento progressivo da carga viral, porém, permanece a controvérsia de qual o melhor momento de iniciá-la. O objetivo deste estudo foi o de se avaliar a recuperação imunológica através da quantificação de linfócitos CD4+, CD8+, a relação CD4/CD8, a carga viral e a apoptose, em 48 pacientes HIV+ que iniciaram a TARV em diferentes períodos da infecção, de acordo com seus níveis de linfócitos CD4+: CD4+ ≥ 350 células/mm³ (n=12) e CD4+ < 350 células/mm³ (n=36), cujos parâmetros foram determinados no início da terapia (Tempo 0) e após 60, 120 e 180 dias. Os resultados demonstraram que nos grupos houve uma diferença significativa ($p < 0,05$) de todos os tempos em relação às médias basais, não ocorrendo uma diferença significativa ($p > 0,05$) na comparação entre os grupos estudados, isso quando avaliado o fator tratamento ao longo dos tempos. Concluiu-se, portanto, que não houve diferença entre os tratamentos dos pacientes que iniciaram a TARV nos diferentes estágios da infecção pelo HIV, ressaltando-se que há necessidade de um estudo por um período mais prolongado, para que melhor se avalie a proporção da recuperação imunológica daqueles pacientes que iniciaram a TARV nas diferentes fases da infecção.

PALAVRAS-CHAVE - HIV, Terapia Antirretroviral (TARV), linfócitos CD4+, apoptose.

SUMMARY - The use of the Antiretroviral Therapy (ART) in individuals HIV+ reverts the immunological status characterized by the depletion of lymphocytes CD4+ and progressive increase of the viral load, however the controversy stays of which the best moment of beginning her. The objective of this study was it of evaluating the immunological recovery through the quantification of lymphocytes CD4+, CD8+, the relationship CD4/CD8, the viral load and the apoptosis. 48 patient HIV+ had beginning TARV in different periods of the infection, in agreement with their levels of lymphocytes CD4+: CD4+ ≥ 350 células/mm³ (n=12) and CD4+ < 350 células/mm³ (n=36), whose parameters were certain in the beginning of the therapy (Time 0) and after 60, 120 and 180 days. The results demonstrated that in the groups there was a significant difference ($p < 0,05$) of all of the times in relation to the basal averages, not happening a significant difference ($p > 0,05$) in the comparison among the studied groups, that when appraised the factor treatment along the times. It was ended, therefore, that there was not difference among the patients treatments that began ART in the different periods of the infection for HIV, being stood out that there is need of the study for a period more lingering, so that better the proportion of the immunological recovery of those patient ones is evaluated that began ART in the different phases of the infection.

KEYWORDS - HIV, Antiretroviral Therapy (ART), lymphocytes CD4+, apoptosis.

INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo-1 (HIV-1) resulta em alterações efetivas e complexas no sistema imunológico, caracterizada por uma progressiva depleção de células CD4+³⁰, as quais acompanham o aumento progressivo dos níveis plasmáticos da carga viral¹⁷. A infecção pelo HIV-1 também induz modificações qualitativas profundas às células CD4+ e a outros elementos do sistema imunológico. Contudo, a causa e os mecanismos da depleção de linfócitos CD4+ e da imunodeficiência verificada nos estágios finais da infecção pelo HIV não foram, ainda, devidamente esclarecidos^{15,23}. Esta acentuada depleção de linfócitos CD4+ não é resultante, apenas, do efeito citopático do HIV-1³³, ela inclui a dinâmica viral, através da regulação da densidade viral, do desenvolvimento, manutenção e da efetividade da imunidade específica para o HIV-1 e dos mecanismos que mantêm a integridade dos pools de células nativas e células de memória⁷.

A terapia antirretroviral (TARV) atualmente utilizada tem-se mostrado eficaz na redução da carga viral através da inibição da replicação viral¹, bem como, na redução dos níveis de apoptose que decorre do processo de ativação celular^{14,32}.

A TARV está associada, ainda, à menor incidência de afecções oportunistas e a redução da mortalidade de pacientes infectados pelo HIV-1^{14,32}, que parece estar relacionada a um relativo grau de restauração do sistema imunológico decorrente da supressão da replicação viral¹¹.

Contudo, a TARV nem sempre resulta na recuperação satisfatória dos níveis sanguíneos de células CD4+, principalmente quando os pacientes submetidos a ela se encontram em estágios mais avançados da infecção pelo HIV³¹. Por outro lado, o início precoce da TARV inclui riscos como o impacto dos efeitos adversos das drogas na qualidade de vida, a toxicidade potencial relacionada às drogas e a diminuição da aderência dos pacientes ao tratamento que pode resultar em maior resistência às drogas disponíveis²⁴.

Prévios estudos^{5,25}, têm recomendado o início da TARV quando a infecção pelo HIV se encontra, ainda, nos estágios iniciais da infecção. No entanto, Levy e colaboradores (1998) propõem que a TARV seja iniciada já na fase aguda da infecção. Seguido destes, outros estudos mostraram que pacientes submetidos à TARV, quando de uma contagem de linfócitos CD4+ < 200 células/mm³, apresentaram mais freqüentemente afecções oportunistas aqueles que iniciam quando esta contagem de linfócitos CD4 é > 350 células/mm³^{6,17,26,28}.

Recebido em 14/02/2005

Aprovado em

¹Mestrado em Farmácia, Departamento de Análises Clínicas - Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

²Professor Orientador - Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina - PGFAR/UFSC

³Infectologista do Ambulatório DST/AIDS - Secretaria de Saúde de Florianópolis, Santa Catarina (SC)

Entretanto, ainda permanecem controvérsias sobre estas recomendações e o melhor momento para se iniciar a TARV. Com isso, o nosso objetivo foi avaliar a recuperação do sistema de defesa imune de pacientes que foram submetidos à TARV em diferentes estágios da infecção: CD4+ ≥ 350 células/mm³ e CD4+ <350 células/mm³, considerando além da contagem de linfócitos CD4+, os níveis de apoptose e viabilidade celular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Participaram deste estudo 48 pacientes, voluntários, comprovadamente soropositivos para o HIV, diagnosticados por dois métodos de ELISA com princípios metodológicos distintos e confirmados por imunofluorescência indireta (IFI), conforme recomendação do Ministério da Saúde (Brasil, 1996), com indicação clínica para iniciarem o tratamento com fármacos anti-retrovirais com base nos critérios determinados pela coordenação Nacional de DST/AIDS. Os pacientes, provenientes do ambulatório de DST/AIDS da Secretaria de Saúde do Município de Florianópolis (SC), após triagem com infectologista, foram encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU/UFSC) para coleta do material biológico (sangue) para a quantificação da carga viral (RNA do HIV) por metodologia NAS-BATM (*Nucleic Acid Sequence-Based Amplification - Organon-Teknika[®], Boxtel, The Netherlands*), linfócitos CD4+ e CD8+ por Citometria de Fluxo FACSCountTM (*Becton Dickinson[®], USA*) e avaliação de viabilidade celular de linfócitos (apoptose) com conjunto reativo LIVE/DEAD[®] (L-3224), contendo calceína AM e homodímero-1 de etídio (EthD-1) (*Molecular Probes Incorporation[®], USA*), com ensaio em Citômetro de Fluxo FACSCalliburTM (*Becton Dickinson[®], USA*), através dos programas CELLQuest[®] e PAINT-A-GATE[®]. Os pacientes com linfócitos CD4+ ≥ 350 células/mm³ (n=12) e CD4+ <350 células/mm³ (n=36), foram avaliados antes do início da terapia (Tempo 0) e após 60, 120 e 180 dias com TARV. As variáveis estudadas foram comparadas entre os grupos e por grupo. Todos os pacientes fizeram uso de TARV composta por 2 inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeo, associado a um inibidor da transcriptase reversa não nucleosídico (2ITRN + 1 ITRNN). Para avaliar o efeito do tratamento ao longo dos tempos entre os grupos estudados, utilizou-se da Análise de Variância Multivariada de Medidas Repetidas, considerando o efeito do fator tempo, e a interação entre os fatores tempo e tratamento, e para análise em cada grupo especificamente, foi realizado análises de contrastes ortogonais. Para todos os resultados, foi utilizado o nível de significância $p < 0,05$. A realização deste estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos, da Universidade Federal de Santa Catarina, processo número 026/99. Todos os pacientes que participaram deste estudo foram classificados como assintomáticos, de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde, e como portador do HIV (Z-21) de acordo com o Código Internacional de Doenças, estabelecido pela Organização Mundial de Saúde, em 1998⁴.

RESULTADOS

Linfócitos CD4+, CD8+

Um aumento significativo de linfócitos CD4+ ocorreu aos 60 dias de terapia em relação às médias basais em ambos os grupos, quando avaliado o fator tempo de tratamento ($p < 0,05$) (Fig.1; Tab.1). Já, aos 120 e 180 dias, não se verificou alteração significativa em relação às médias verificadas aos 60 dias de tratamento ($p > 0,05$). Na comparação entre os grupos, avaliando os tratamentos ao longo do tempo de 180 dias, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) (Fig.1; Tab.1). No grupo que iniciou a TARV com CD4+ ≥ 350 células/mm³ a média de acréscimo de células foi de 11,4%, em comparação ao acréscimo de 37,73% de células do grupo que iniciou a TARV com CD4+ <350 células/mm³ (Fig.1; Tab.2). Quanto aos linfócitos CD8+, não ocorreu diferença significativa em nenhum momento do estudo para o grupo CD4+ <350 células/mm³ ($p > 0,05$; Fig.2), e o grupo CD4+ ≥ 350 células/mm³, demonstrou um decréscimo significativo de suas médias apenas aos 60 dias, sendo que aos 120 e 180 dias de terapia, este decréscimo foi diferente apenas em relação à média basal ($p < 0,05$; Fig.2). Na comparação entre os grupos, nenhuma diferença pôde ser constatada ($p > 0,05$), e o decréscimo percentual do número de linfócitos CD8+ foi de 29,6% e 2,1% para os grupos CD4+ ≥ 350 células/mm³ e CD4+ <350 células/mm³, respectivamente (Tab.2).

Relação CD4/CD8 e Carga Viral

Após 60 dias do uso da terapia, a relação linfócitos CD4/CD8 apresentou aumento significativo ($p < 0,05$), porém aos 120 e 180 dias, só houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação às médias basais, em ambos os grupos (Fig. 3; Tab.1). Na comparação entre os grupos, não ocorreu diferença significativa ($p > 0,05$). O percentual de acréscimo na relação CD4/CD8 foi de 34,9% e 42,2%, para CD4+ ≥ 350 células/mm³ e CD4+ <350 células/mm³, respectivamente (Tab.2). A carga viral após 60 dias apresentou uma queda abrupta em suas médias em ambos os grupos, caracterizando uma diferença significativa ($p < 0,05$) em relação às médias basais, e seus valores assim permaneceram até o fim do período de estudo (Fig.4; Tab.1). Os resultados não apresentaram diferença significativa quando foi realizada uma comparação entre os grupos que iniciaram a terapia em diferentes estágios ($p > 0,05$), e o percentual de queda da carga viral foi de 94,32% e 99,25% para os grupos CD4+ ≥ 350 células/mm³ e CD4+ <350 células/mm³, respectivamente (Tab.2).

Linfócitos Viáveis, Inviáveis e Apoptóticos

As médias de linfócitos viáveis (Fig.5) e em apoptose (Fig.6) apresentaram uma significativa diferença ($p < 0,05$) aos 60 dias em relação às médias basais nos dois grupos, e aos 120 e 180 dias esta diferença foi significativa apenas em relação às médias basais ($p < 0,05$; Tab.1). O linfócitos inviáveis (Fig.7) não apresentaram diferenças estatísticas ($p > 0,05$) durante os 180 dias de estudo, e a análise estatística comparando os grupos, não apresentou diferenças sig-

nificativas para nenhum parâmetro de viabilidade e apoptose ($p>0,05$; Tab.1). O grupo $CD4+ \geq 350$ células/mm³ obteve um acréscimo maior na percentagem de linfócitos viáveis (58,18%), um decréscimo maior nos linfócitos apoptóticos (39,35%) e inviáveis (25,53%), em relação ao grupo $CD4+ < 350$ células/mm³, que obteve, respectivamente, um aumento de 45,85% nos linfócitos viáveis, decréscimo de 33,18% e 17,28% para linfócitos apoptóticos e inviáveis, respectivamente (Tab.2).

Tabela I

Valores de Médias (M) e Desvio Padrão (DP) para linfócitos CD4+, CD8+, Rel CD4/CD8, Carga Viral e Viabilidade Celular (apoptose) nos tempos 60, 120 e 180 dias após início da Terapia Antirretroviral em dois estágios diferentes da infecção.

MARCADOR	CD4+ ≥ 350 células/mm ³			CD4+ < 350 células/mm ³		
	T (dias)	Média (M)	Desvio Padrão	T (dias)	Média (M)	Desvio Padrão
CD4+	0	485,42 ^a	87,60	0	188,40 ^a	94,70
	60	542,70 ^b	266,77	60	282,40 ^b	155,80
	120	547,66 ^b	196,80	120	274,80 ^b	130,75
	180	547,83 ^b	220,50	180	300,10 ^b	167,70
Carga Viral	0	108.714,28 ^a	91.050,26	0	182.500,00 ^a	252.368,00
	60	7.363,14 ^b	12.257,11	60	2.490,12 ^b	2.745,29
	120	3.474,62 ^b	7.888,38	120	1.015,09 ^b	1.605,17
	180	6.172,00 ^b	1.793,50	180	1.368,18 ^b	1.571,61
CD8+	0	1.175,33 ^a	484,51	0	810,63 ^a	406,93
	60	1.045,50 ^b	435,33	60	795,78 ^b	437,19
	120	960,16 ^b	326,14	120	782,84 ^b	346,91
	180	897,66 ^b	284,10	180	793,36 ^b	421,64
Rel CD4/CD8	0	0,41 ^a	0,17	0	0,26 ^a	0,14
	60	0,57 ^{ab}	0,32	60	0,43 ^b	0,35
	120	0,60 ^{ab}	0,20	120	0,41 ^b	0,22
	180	0,63 ^b	0,20	180	0,45 ^b	0,39
Linfócitos Viáveis	0	15,69 ^a	11,55	0	20,22 ^a	14,31
	60	23,56 ^{ab}	13,40	60	26,07 ^b	16,41
	120	34,59 ^b	22,04	120	35,89 ^b	20,18
	180	37,52 ^b	17,68	180	44,10 ^b	22,13
Linfócitos Inviáveis	0	9,28	8,91	0	11,11	8,69
	60	8,35	7,22	60	9,38	6,31
	120	9,49	10,26	120	10,94	8,30
	180	6,92	5,38	180	9,19	6,67
Linfócitos Apoptóticos	0	72,93 ^a	16,40	0	68,22 ^a	17,68
	60	63,70 ^b	19,64	60	64,12 ^b	19,17
	120	52,71 ^b	20,85	120	56,12 ^b	18,34
	180	44,23 ^b	18,06	180	45,58 ^c	21,18

Tabela II

Varição percentual (%) de acréscimo (+) e decréscimo (-) ocorrida ao fim de 180 dias de estudo para os parâmetros em estudo.

MARCADOR	VARIAÇÃO MÉDIA EM 180 DIAS (%)	
	CD4+ ≥ 350 céls./mm ³	CD4+ < 350 céls./mm ³
CD4+	+11,4	+37,73
Carga Viral	-94,32	-99,25
CD8+	-29,6	-2,1
Rel CD4/CD8	+34,9	+42,2
Linfócitos Viáveis	+58,18	+45,85
Linfócitos Inviáveis	-25,43	-17,28
Linfócitos Apoptóticos	-39,35	-33,18

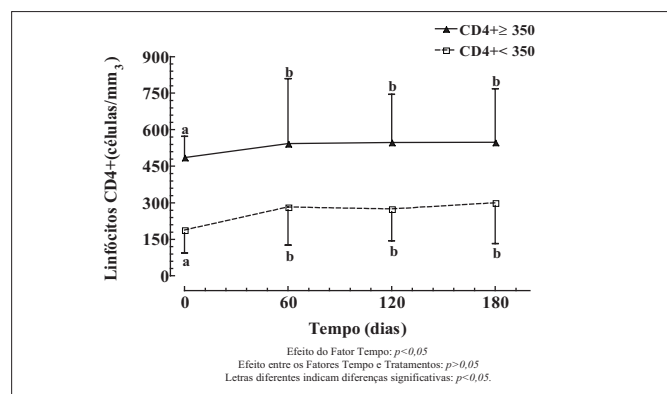


Fig. 1. Efeito da Terapia Antirretroviral sobre a contagem de Linfócitos CD4+ em dois grupos de pacientes que iniciaram terapia com CD4+ 350 células/mm³ e CD4+ <350 células/mm³ (Média ± DP).

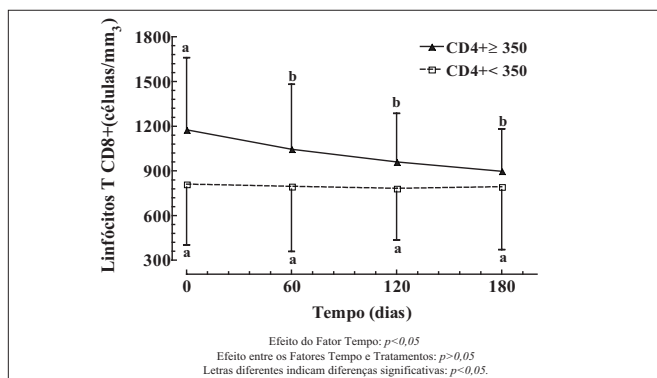


Fig. 2. Efeito da Terapia Antirretroviral sobre a contagem de Linfócitos CD8+, em dois grupos de pacientes que iniciaram terapia com CD4+ 350 células/mm³ e CD4+ <350 células/mm³ (Média ± DP).

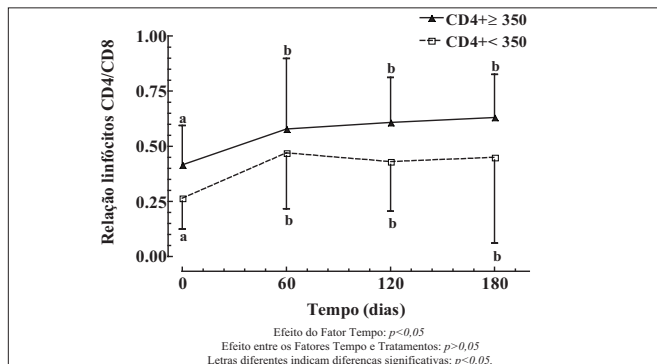


Fig. 3. Efeito da Terapia Antirretroviral sobre a relação de Linfócitos CD4/CD8, em dois grupos de pacientes que iniciaram terapia com CD4+ 350 células/mm³ e CD4+ <350 células/mm³ (Média ± DP).

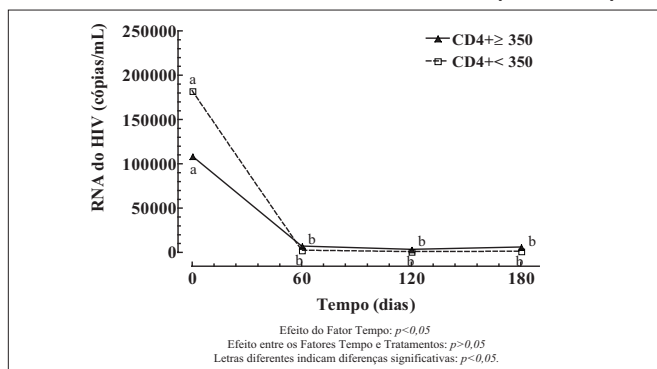


Fig. 4. Efeito da Terapia Antirretroviral sobre a carga viral (RNA do HIV-1), em dois grupos de pacientes que iniciaram terapia com CD4+ 350 células/mm³ e CD4+ <350 células/mm³ (Média ± DP).

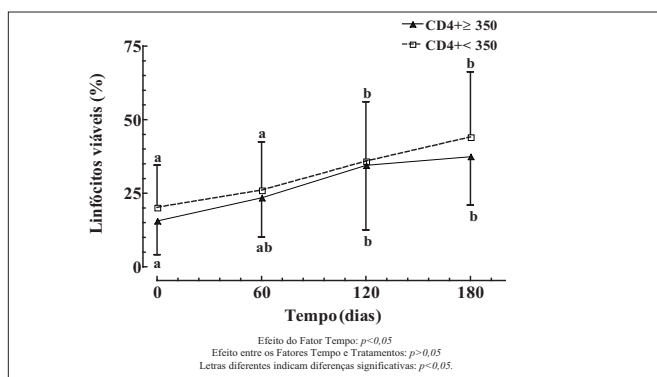


Fig. 5. Efeito da Terapia Antirretroviral sobre linfócitos viáveis (vivos), em dois grupos de pacientes que iniciaram terapia com CD4+ 350 células/mm³ e CD4+ <350 células/mm³ (Média ± DP).

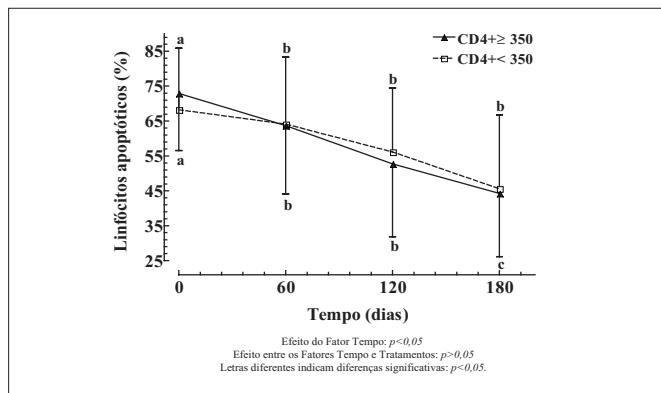


Fig. 6. Efeito da Terapia Antirretroviral sobre linfócitos apoptóticos, em dois grupos de pacientes que iniciaram terapia com CD4+ ≥ 350 células/mm³ e CD4+ < 350 células/mm³ (Média $\pm$ DP).

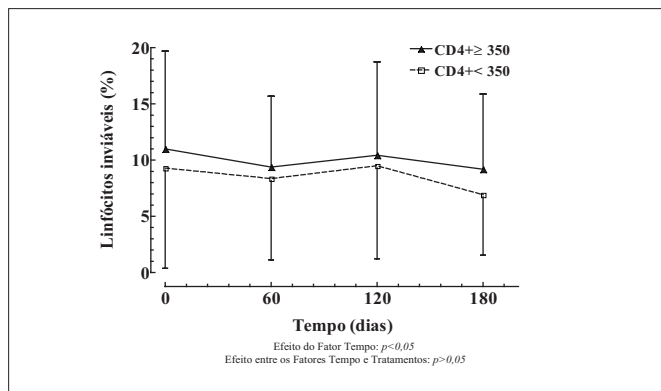


Fig. 7. Efeito da Terapia Antirretroviral sobre linfócitos inviáveis (mortos), em dois grupos de pacientes que iniciaram terapia com CD4+ ≥ 350 células/mm³ e CD4+ < 350 células/mm³ (Média $\pm$ DP).

DISCUSSÃO

A TARV tem propiciado grandes benefícios clínicos e imunológicos nos pacientes infectados pelo HIV², porém, o grau de reconstituição do sistema imune não tem sido completamente alcançado³⁵, e tem-se verificado comprometimento clínico nos pacientes em estágio avançado da infecção²¹. No entanto, ainda há dúvidas de quando seria o melhor momento para instituí-la²⁴, e nesse ínterim, tem-se observado mudanças nos consensos sobre TARV que postulavam uma terapia mais agressiva, quando de uma alta contagem de linfócitos CD4+, para uma terapia mais tardia, tendo seu início quando de uma baixa contagem de células CD4+ (CD4+ ≤ 200 células/mm³), fase da infecção onde há maior risco para progressão para AIDS ou morte^{5,29}. Ainda, uma outra controvérsia recai sobre o papel da apoptose como potencial mecanismo de depleção de linfócitos CD4+ em pacientes HIV+, pois estudos têm demonstrado este mecanismo como responsável pela depleção de linfócitos em indivíduos infectados pelo vírus^{12,18}. Roger e colaboradores (1999), demonstraram que a apoptose de linfócitos CD4+ em pacientes HIV+, ocorre em menor extensão quando do uso da TARV, e esta inibição parece ser independente da viremia plasmática, o que também foi verificado por Gougeon (1995) e Katsikis (1995) que demonstraram altos níveis de apoptose em pacientes em estágios mais avançados da infecção, já com AIDS.

Na avaliação dos linfócitos CD4+, verificamos que ambos os grupos tratados obtiveram aumento na sua contagem de linfócitos CD4+ ao fim de 180 dias de estudo, tendo o gru-

po CD4+ ≥ 350 células/mm³, alcançado os valores de referência, não havendo, todavia, diferença estatística ($p > 0,05$) em relação ao grupo tratado com CD4+ < 350 células/mm³, quando avaliado o fator tratamento ao longo do tempo. Já na comparação entre os grupos, a diferença foi significativa ($p < 0,05$) em todos os tempos, 60, 120 e 180 dias em relação ao tempo 0 (zero), porém, vale lembrar que esta é uma característica dos pacientes que fazem uso da TARV¹⁶. Ressalta-se, que mesmo não ocorrendo diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos, observa-se que houve um predomínio acréscimo de linfócitos CD4+ no decorrer de 180 dias no grupo CD4+ < 350 células/mm³ ($188,40 \pm 94,70 - 300,10 \pm 167,70$), se comparado ao grupo CD4+ ≥ 350 células/mm³ ($485,42 \pm 87,60 - 547,83 \pm 220,50$) que recuperou os valores de referência, o que percentualmente significa um acréscimo de 37,3% e 11,3%, respectivamente.

Em estudo realizado por Plana e colaboradores (2000) por um período de 12 meses, pacientes que iniciaram TARV com CD4+ > 500 células/mm³ não obtiveram acréscimo significativo de células aos 180 dias (792 ± 157 para 772 ± 157), o que é igualmente observado em nosso estudo para o grupo que iniciou a TARV com CD4+ ≥ 350 células/mm³, contudo, após este período e ao fim de 12 meses o acréscimo chegou à 43,3% ($792 \pm 263 - 1.398 \pm 452$). Acréscimos semelhantes foram obtidos por Opravil e colaboradores (2002) e Bart e colaboradores (2000), em estudos realizados por um período de doze meses, demonstrando um pequeno acréscimo no período inicial de seis meses de terapia, porém relevante ao fim do estudo. Estes autores, além de terem demonstrado com seus resultados uma completa normalização quantitativa de linfócitos CD4+ após 180 dias de terapia, também sinalizaram uma recuperação da resposta antígeno específica, com uma efetiva e durável supressão da replicação viral, e uma preservação da função imune em pacientes tratados precocemente com linfócitos CD4+ ≥ 350 células/mm³ e CD4+ ≥ 400 células/mm³, respectivamente, resultando em uma significativa diminuição na progressão clínica.

A redução no número de linfócitos CD8+ que acompanha a restauração dos níveis de linfócitos CD4+ em indivíduos em uso de TARV, ocorre tanto no sangue periférico como nos nódulos linfáticos², sendo esta redução dependente dos valores basais iniciais de linfócitos CD8+ e carga viral²⁰. Em nossos pacientes, a queda nos níveis de linfócitos CD8+, ocorreu somente no grupo tratado no estágio precoce da infecção (CD4+ ≥ 350 células/mm³) ($p < 0,05$), porém, não houve diferença significativa em relação ao segundo grupo (tratado tardiamente), e observou-se que esta queda foi progressiva. É importante ressaltar a relação desta queda progressiva com os valores obtidos dos linfócitos CD4+ do grupo CD4+ ≥ 350 células/mm³, cujo grupo obteve um pequeno acréscimo de células e recuperou seus valores de referência, o que caracteriza, uma diminuição da atividade citotóxica responsiva dos linfócitos CD8+ à uma menor estimulação crônica dos linfócitos CD4, nestes pacientes considerados menos debilitados pela infecção do HIV-1³⁶. Ao contrário disso, o grupo que iniciou TARV com CD4+ < 350 células/mm³, no qual verificou-se um acréscimo de linfócitos CD4+ mais significativo, os valores para CD8+ mantiveram-se constantes e sem alterações significativas ($p > 0,05$) até o fim do período de estudo, demonstrando que, apesar da restauração quantitativa de linfócitos CD4+, a atividade estimulatória sobre linfócitos citotóxicos permaneceu ativa. Estes resultados para linfócitos CD8+ corroboram com os resultados de outros estudos que iniciaram a TARV preco-

cemente, onde seus valores tiveram uma queda percentual e absoluta, já ao fim de seis meses de terapia, em resposta há um aumento gradual dos linfócitos CD4⁺^{2,34}. Para os valores da relação CD4/CD8 obtidos no tempo de estudo, não ocorreu diferenças significativas ($p>0,05$) na comparação entre os grupos, mas somente em cada grupo, nos tempos 60, 120 e 180 dias em relação ao tempo 0 (zero). Estes resultados são uma resposta direta da manutenção dos linfócitos CD4⁺, quanto aos seus valores de referência no grupo CD4⁺ ≥ 350 células/mm³, e a queda dos linfócitos CD8⁺. Com isso, este grupo apresentou valores de Rel CD4/CD8 acima de 0,5 (valor de referência) já aos 60 dias de TARV, em contrapartida aos valores abaixo de 0,5 do grupo CD4⁺ < 350 células/mm³. O aumento na contagem de linfócitos CD4⁺ está associado a uma diminuição da apoptose, quando do uso da TARV³⁸, e esta teoria é suportada por alguns estudos^{3,8,13}. Nossos resultados vêem corroborar com estes trabalhos, ao mostrar uma redução significativa ($p<0,05$) nos níveis de apoptose para ambos os grupos, CD4⁺ ≥ 350 células/mm³ (72,93%-44,23%) e CD4⁺ < 350 células/mm³ (68,22%-45,58%) ao fim de 180 dias. Estes resultados estão associados a um aumento do número de linfócitos CD4⁺ e a uma elevação no percentual de células viáveis, onde o grupo com CD4⁺ ≥ 350 células/mm³ apresentou um aumento de 15,69% para 37,52% de células viáveis ($p<0,05$), e houve um aumento de 20,22% para 44,10% ($p<0,05$) no grupo que iniciou a TARV com CD4⁺ < 350 células/mm³. Com isso, demonstra-se que o acréscimo no número de linfócitos viáveis foi de 58,18% e 45,85%, respectivamente, e o decréscimo do número de linfócitos em apoptose foi de 39,35% e 33,18% menores, respectivamente. Associado ao aumento de linfócitos CD4⁺, uma rápida e efetiva diminuição na concentração de partículas virais no plasma à níveis indetectáveis, é obtida após início da TARV³⁷. Resultados estes também evidenciados em nosso trabalho, onde ocorreu uma queda abrupta e proporcional em ambos os grupos em estudo, aos 60 dias, e que manteve-se durante todo o período do estudo, caracterizando diferenças significativas em relação aos níveis basais ($p<0,05$). Alguns trabalhos têm demonstrado que estes níveis de carga viral no plasma, caracterizados como indetectáveis, não necessariamente correspondem a completa latência viral, indicando que existe uma persistente replicação viral residual nos órgãos linfóides^{9,10}. Portanto, para os parâmetros laboratoriais avaliados neste estudo, os resultados não mostram diferenças estatísticas significativas entre os grupos que iniciaram a TARV em diferentes estágios da infecção, entretanto, é importante observar a evolução destes resultados, onde o grupo que iniciou as TARV com CD4⁺ ≥ 350 células/mm³, para todos os parâmetros analisados, com exceção da carga viral, mostrou uma reconstituição imunológica, quantitativa, mais consistente em relação ao grupo CD4⁺ < 350 células/mm³. Percebe-se com isso, a necessidade de caracterizar a proporção da recuperação imunológica em cada grupo, em um período de estudo mais prolongado e assim correlacioná-los para se saber o momento mais adequado para instituir a TARV. Por fim, nossos resultados também caracterizam, como em outros estudos, a apoptose como um possível e importante parâmetro para avaliar a eficácia da TARV em pacientes infectados pelo HIV, com perspectiva, ainda, de avaliarmos os variáveis graus de apoptose em pacientes que fazem uso da TARV, com ou sem associação de Inibidores de Protease (IP).

REFERÊNCIAS

1. Altfeld, M.; Rosenberg, E. S.; Shankarappa, R. et al. Cellular immune responses and viral diversity in individuals treated during acute and early HIV-1 infection. *J. Exp. Med.*, 193: 169-180, 2001.
2. Bart, P. A.; Rizzardi, G. P.; Tambussi, G.; et al. Immunological and virological responses in HIV-1-infected adults at early stage of established infection treated with highly active antiretroviral therapy. *AIDS*, 14: 1887-1897, 2000.
3. Bohler, T.; Walcher, J.; Holz-Wenig, G. et al. Early effects on antiretroviral combination therapy on activation, apoptosis and regeneration of the cells in HIV-1-infected children and adolescents. *AIDS*, 13: 779-789, 1999.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de DST/AIDS. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV-2004. Brasília, 2004.
5. Carpenter, C.C.; Fischl, M.A.; Hammer, S.M.; et al. Antiretroviral Therapy For HIV Infection In 1998. Updated Recommendations Of The International Aids Society-USA Panel. *J. Am. Med. Assoc.*, 280: 78-86, 1998.
6. Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (DAD) Study Group. Combination antiretroviral therapy and risk of myocardial infarction. *N. Eng. J. Med.*, 349: 1993-2003, 2003.
7. Doueck, D.; Picker, L. J.; Koup, R. A. T cell dynamics in HIV-1 infection. *Annu. Rev. Immunol.* 21:265-304, 2003.
8. Ensoli, F.; Fiorelli, V.; Alario, C.; et al. Decreased T cell apoptosis and T cell recovery during highly active antiretroviral therapy (HAART). *Clin. Imm.*, 4915(97): 9-20, 2000.
9. Finzi, D.; Blankson, J.; Siliciano, J. D.; et al. Latent infection of CD4⁺ T-cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. *Nat. Med.*, 5: 512-517, 1999.
10. Furtado, M. R.; Callaway, D. S.; Phair, J. P.; et al. Persistence of HIV-1 transcription in peripheral-blood antiretroviral therapy. *N. Engl. J. Med.*, 340: 1614-1622, 1999.
11. Gorochov, G.; Neumann, A. U.; Kereveur, A. et al. Perturbation of CD4 and CD8 T cell repertoires during progression to AIDS and regulation of the CD4 repertoire during antiretroviral therapy. *Nat. Med.*, 4: 215-221, 1998.
12. Gougeon, M. L.; Lecoq, H.; Dulioust, A.; et al. Programmed cell death in peripheral lymphocytes from HIV-infected persons. *J. Immunol.*, 156: 3509-3514, 1995.
13. Gougeon, M. L.; Ledru, E.; Naora, H.; et al. HIV, cytokines and programmed cell death. A soluble interplay. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 926: 30-45, 2000.
14. Grelli, S.; Campagna, S.; Lichtner, M.; et al. Spontaneous and anti-Fas-induced apoptosis in lymphocytes from HIV-infected patients undergoing highly active anti-retroviral therapy. *AIDS*, 14: 939-949, 2000.
15. Grossman, Z.; Meier-Schellersheim, M.; Souza, A. E.; Victorino, R. M.; Paul, W.E. CD4⁺ T-cell depletion in HIV infection: Are we closer to understanding the cause? *Nat. Med.*, 8: 319-323, 2002.
16. Gulick RM, Mellors JW, Havlir D, et al. Treatment of indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior antiretroviral therapy. *N. Engl. J. Med.*, 337: 734-39, 1997.
17. Hogg, R. S.; Yip, B.; Chan, K. J. et al. Rates of disease progression by baseline CD4 cell count and viral load after initiating triple-drug therapy. *J. Am. Med. Association.*, 286: 2568-2577, 2001.
18. Johnson, N.; Parkin, J. M.; Antiretroviral therapy reverses HIV-associated abnormalities in lymphocyte apoptosis. *Clin. Exp. Med.*, 113: 229-234, 1998.
19. Katsikis, P. D.; Wunderlich, E. S.; Smith, C. A.; et al. Fas antigen stimulation induces marked apoptosis of T lymphocytes in human immunodeficiency virus-infected individuals. *J. Exp. Med.*, 181: 2029-2036, 1995.
20. Keita-Perse, O.; Roger, P. M.; Pradier, C.; et al. Do viral load and CD8 cell count at initiation of tritherapy influence the increase of CD4 T cell count? *AIDS*, 12: F175-179, 1998.
21. Lederman, M. M.; Connick, E.; Landay, A.; et al. Immunologic responses associated with 12 weeks of combination antiretroviral therapy consisting of zidovudine, lamivudine and ritonavir: results of AIDS clinical trials group protocol 315. *J. Infect. Dis.*, 178: 70-79, 1998.
22. Levy, J. A. Caution: should we be treating HIV infection early?. *Lancet*, 352: 982-983, 1998.

23. McCune, J. M. The dynamics of CD4+ T-cell depletion in HIV disease. *Nature*, 410: 974-979, 2001.
24. Mocroft, A.; Lundgren, J. D. Starting highly active antiretroviral therapy: why, when and response to HAART. *J. Antimicrob. Chemoth.*, 54: 10-13, 2004.
25. Montaner, J. S.; Hogg, R.; Raboud, J.; et al. Antiretroviral treatment in 1998. *Lancet*, 352: 1919-1922, 1998.
26. O'Brien, M. E.; Clark, R. A.; Besch, L.; et al. Patterns and correlates of discontinuation of the initial HAART regimen in an urban outpatient cohort. *J. Acq. Imm. Defic. Synd.*, 34: 407-414, 2003.
27. Opravil, M.; Ledergerber, B.; Furrer, H.; et al. Clinical efficacy of early initiation of HAART in patients with asymptomatic HIV infection and CD4 cell count > 350 x 106/l. *AIDS*, 16: 1371-1381, 2002.
28. Palella, F. J.; Deloria-Knoll, M.; Chmiel, J. S.; et al. Survival benefit of initiating antiretroviral therapy in HIV-infected persons in different CD4+ cell strata. *Ann. of Internal. Med.*, 138: 620-626, 2003.
29. Panel on Clinical Practices for treatment of HIV-infection. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1 infected adults and adolescents. [Online] <http://aidsinfo.nih.gov/guidelines/>. 2004.
30. Pantaleo, G.; Fauci, A. S. New concepts in the immunopathogenesis of HIV infection. *Ann. Rev. Immunol.*, 13:487-513,1995.
31. Pantaleo, G. How immune-based interventions can change HIV therapy. *Nat. Med.*, 3: 483-486, 1997.
32. Phoenix, B. N.; Angel, J. B.; Mandy, F.; et al. Decreased HIV-associated T cell apoptosis by HIV protease inhibitors. *AIDS Res. Hum. Ret.*,16: 559-567, 2000.
33. Piketty, C.; Castiel, P.; Belec, I.; et al. Discrepant responses to triple combination antiretroviral therapy in advanced HIV disease. *AIDS*, 12: 745-750, 1998.
34. Plana, M.; Garcia, F.; Gallart, T.; et al. Immunological benefits of antiretroviral therapy in very early stages of asymptomatic chronic HIV-1 infection. *AIDS*, 14: 1921-1933, 2000.
35. Roger, P. M.; Breittmayer, J. P.; Arlotto, C.; et al. Highly active anti-retroviral therapy (HAART) is associated with a lower level of CD4+ T cell apoptosis in HIV-infected patients. *Clin. Exp. Immunol.*, 188: 412-416, 1999.
36. Rosenberg, E. S.; Altfield, M.; Poon, S. H.; et al. Immune control of HIV-1 after early treatment of acute infection. *Nature*, 407:523-526, 2000.
37. Schockmel, G. A.; Yerly, S.; Perrin, L. Detection of low HIV-1 RNA levels in plasma. *Defic. Synd. Hum. Retrov.*, 14: 179-183,1997.
38. Wasmuth, J. C.; Hackbarth, F.; Rockstroh, J. K.; et al. Changes of lymphocyte apoptosis associated with sequential introduction of highly active antiretroviral therapy. *HIV Med.*, 4: 111-119, 2003.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA
Celso Spada
Rua João Pio Duarte Silva, 844
CEP. 88037-060 - Florianópolis - Sc



33º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 6º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

04 a 08 de junho de 2006

**Local:
Estação Embratel Convention Center - Curitiba - PR**

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

**38 anos de dedicação ao desenvolvimento
das análises clínicas de todo o país**



**Construindo o futuro das
análises clínicas no Brasil!**

*Provedor de Ensaio de Proficiência nas Áreas de
Laboratórios Clínicos, Bancos de Sangue e
Organizações de Diagnóstico In Vitro e Alimentos*



**Programa
Nacional de
Controle de
Qualidade**

PNCQ

Programa Nacional de Controle de Qualidade

Tel : [21] 2103 4000

www.pncq.org.br

pncq@pncq.org.br

*Acreditação de Sistema de Qualidade de
Laboratórios Clínicos e de Organizações
prestadoras de serviços de saúde.*



**Sistema
Nacional de
Acreditação**

DICQ

DICQ Sistema Nacional de Acreditação

Tel [21] 2187-0822

www.dicq.org.br

acreditacao@dicq.org.br



**ABNT/CB-36
Comitê Brasileiro de Análises
Clínicas e Diagnóstico In Vitro**



**Comitê Mercosul de
Normalização**

TEAC

**Título de Especialista
em Análises Clínicas**



Jornal SBAC

GLAC

**Gestor de Laboratórios
de Análises Clínicas**

Associe-se à SBAC

**Tel: (21) 2187-0800
www.sbac.org.br
geral@sbac.org.br**



33°

CONGRESSO
BRASILEIRO DE
ANÁLISES CLÍNICAS

60°

CONGRESSO
BRASILEIRO DE
CITOLOGIA CLÍNICA

CURITIBA | 04 A 08 DE JUNHO DE 2006

EMBRATEL CONVENTION CENTER

Não perca esta chance de atualizar seus conhecimentos em um evento repleto de convidados internacionais, cursos e conferências especialmente elaboradas para abordar temas importantes da realidade laboratorial brasileira. Serão quatro dias de pura vivência em ciência e tecnologia.

Participe desta atualização acadêmica em cadeia.

HEMATOLOGIA

Curso Pré-Congresso
Investigação Laboratorial
das Anemias: Interpretação
do Hemograma e Exames
Complementares

Mini-Curso
Atualização em
Imunohematologia

IMUNOLOGIA

Curso Pré-Congresso
Os Anticorpos Antinucleares
e as Doenças Reumáticas
Sistêmicas

Mini-curso
O Laboratório de Sorologia
nas Doenças Infecciosas
de Interesse na Gestante,
Recém Natos e Imunodeprimidos

BIOQUÍMICA

Curso Pré-Congresso
Bioquímica do Dia-a-Dia
(Casos Clínicos)

Mini-Curso
Padronização em
Urinálise

MICROBIOLOGIA

Curso Pré-Congresso
Rotina de Microbiologia para
laboratórios de pequeno
e médio porte.

Mini-Curso
O laboratório de Microbiologia
no diagnóstico precoce de
infecções de alta mortalidade
em pacientes críticos.

CITOLOGIA

Curso Trans-Congresso
Seminário de
Lâminas - 8 horas

Citologia de base líquida
Digene Corporation
Curso de 8 horas

Convidados Internacionais

| Dr. ALEJANDRO MADRIGAL Dsc - Inglaterra | Dr. NEIL WOODFORD - Inglaterra |
| Dr. STEVEN C. KAZMIERCZAK, Ph.D. - Estados Unidos | Dr. D. JOE BOONE - Estados Unidos |
| Dr. MATHIAS M. MÜELLER - Áustria | Dr. P. GILLERY - França

Para obter mais informações acesse o site: www.qeeventos.com.br

PATROCÍNIO

REALIZAÇÃO


alvaro
Centro de Análises e Pesquisas Clínicas
Apoio a Laboratórios

DADE BEHRING
A cada minuto de cada dia™

Labtest 


**Sociedade Brasileira
de Análises Clínicas**


SBCC
SOCIEDADE BRASILEIRA DE
CITOLOGIA CLÍNICA


Qualidade Eventos
Eventos Corporativos Especiais