

RBAC

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

SUMÁRIO

Efeito do tabagismo sobre o perfil lipídico e suas implicações em detentos internos do presídio estadual de Erechim-RS..... <i>Marina Prigol, Fabricio Marmentini, Neiva Aparecida Graziotin & Sandra Manoela Dias Macedo</i> Effect of tabagism on the lipid levels and their implications in internal prisoners of state penitentiary of Erechim-RS	3
Aspectos Gerais nas Infecções por <i>Helicobacter pylori</i> <i>Jullyana S. Siqueira, Pollyana S.S. Lima, André S. Barreto, Lucindo J. Quintans-Júnior</i> General aspects of <i>Helicobacter pylori</i> infections	9
Infecções parasitárias: diagnóstico imunológico de enteroparasitoses..... <i>Marlei Uecker, Caroline E. Copetti, Luciana Poleze, Vanessa Flores</i> Parasital infection: immunologic diagnostic of enteroparasitosis	15
Avaliação bacilos cópica de pacientes com hanseníase multibacilar em uma unidade de referência do município de Fortaleza – Ceará..... <i>Cynthia Duarte Santos, Everardo Albuquerque Menezes, Francisco Afrânio Cunha, Creuza Lima Campelo, Irismar Silva, Delaide Sampaio</i> Bacilos copic valuation of patients with multibacillar Hansen's disease at a reference unity of the Fortaleza city of Ceará	21
Avaliação dos índices hematimétricos emitidos pelos contadores hematológicos Pentra 120 Range e Sysmex XT-2000i..... <i>Hoffmann, Leticia Pinto; Polletti, Clarissa; Roehrig, Katiane Sganzerla; Aziz, Marina Meneses, Kuntz, Ana Karina, Dall Cortivo, Giselle; Souza, Nicéia Mara Almeida.; Santos-Silva, Maria Cláudia</i> Evaluation of the hematimetric index emitted by hematological accountants Pentra 120 Screeches and Sysmex XT-2000i	25
Extrato Aquoso de <i>Baccharis trimera</i> (Asteraceae) Diminui a Inflamação e o Dano Celular em Pleurisia Induzida por Veneno de <i>Dirphia</i> sp. (Saturniidae)..... <i>Carlos Eduardo Leite, Adroaldo Lunardelli, Telmo Abelin Castaman, Elisiane Losa Paul e Jarbas Rodrigues de Oliveira</i> Aqueous Extract of <i>Baccharis trimera</i> (Asteraceae) Decreases Inflammation and Cellular Damage in Pleurisy Induced by <i>Dirphia</i> sp. (Saturniidae) Venom	29
Prevalência de Vaginites infecciosas através da Citologia Clínica: Um estudo no Laboratório Central de Saúde Pública do Piauí..... <i>Evaldo Hipólito de Oliveira, Leonardo Ferreira Soares</i> Prevalence of Vaginitis infectious through the Clinical Cytology: A study in the Central Laboratory of Public Health of the Piauí	33
Diagnóstico laboratorial da infecção por toxoplasma gondii na gestação..... <i>Mário Ferreira, Melissa Cristina Mortean Bicheri, Michele Bertanha Nunes, Cilene Carmen Munhoz Ferreira</i> Diagnosis laboratorial of the infection for toxoplasma Gondii in the gestation	37
Prevalência de enteroparasitoses em reeducandos da Penitenciária "Maurício Henrique Guimarães Pereira" de Presidente Venceslau – SP..... <i>Ricardo de Souza Abraham, Nair Toshiko Tashima, Maria Aparecida da Silva</i> Enteroparasitic prevalence in prisoner of the Penitentiary "Maurício Henrique Guimarães Pereira" of Presidente Venceslau – SP	39
<i>Chlamydia trachomatis</i> : Diagnóstico Citológico e por Imunofluorescência direta em uma amostra de mulheres do grande Recife..... <i>Adrya Lúcia Peres Bezerra de Medeiros; Carlos Eduardo de Queiroz Lima; Elizabeth Malagueño de Santana; Diógenes Luis da Motta & Tetsuo Tashiro</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> : Cytological and direct immunofluorescence diagnosis in a sample of women from great Recife	43
Efeito da leucocitospermia na análise do sêmen <i>Francine Muraro; Tanara Caroline Hennemann; Karin Jaeger Anzolph; Osmar Luiz Magalhães Oliveira</i> Effect of polymorphonuclear leucocytes on semen analysis	47
Teste "in vitro" com ertapenem dentro de um hospital público do Rio de Janeiro <i>Sérgio Barboza Dos Santos, Fernando Lúcio Guimarães da Silva, Selma de Souza Romeu, Giselle da Rocha Thompson Coelho, Samanta das Graças Oliveira</i> "In vitro" test with ertapenem inside a Rio de Janeiro's public hospital	51
Avaliação de Infecção Urinária em Gestantes no Primeiro Trimestre de Gravidez..... <i>JACÓLIUNAS, Laura Vicedo e PICOLI, Simone Ulrich</i> Evaluation of Non Syntomatic Urinary Infection in Pregnants in the First Trimester of Pregnancy	55
Infecções urinárias de origem bacteriana diagnosticadas em Umuarama-PR..... <i>Juliana Carla Oliveira da Silva; Tais Fernanda Francisco Farias; Adrieli Lago Santos; Antonia Cristina Françolin; Terezinha Inez Estivalet Svidzinski</i> Bacterial urinary infections diagnosed in Umuarama-PR	59
Avaliação endócrina e morfológica de transplante autólogo de ovários íntegros e fatiados em coelhas <i>Luiz Ronaldo Alberti, Leonardo de Souza Vasconcellos, Andy Petroianu</i> Endocrinologic and morphologic assessment of intact and sliced ovarian autologous transplantation in rabbits	63
Análise comparativa de metodologias para dosagem de proteinúria de 24 horas..... <i>Juliana Bernardon Pretto Gonçalves, Maria do Carmo Miranda, Daniela Valcarenghi, Ednéia Casagrande Bueno</i> Comparative analyses of methodologies for 24-hour proteinuria quantification	67
Citometria de imagem do conteúdo de dna nuclear de células epiteliais do colo uterino..... <i>Sabrina Gonçalves, Patricia Haas, Celso Spada, Clarisse Salete Fontana, Luciano Rangel, Maria Andréia Corrêa Mendonça, Carlos Roberto de Carvalho</i> EDNA content image cytometry of epithelial cells cervix	71

1

VOLUME 39

2007

Caros amigos,

***D**esde o início de nosso trabalho à frente da SBAC, há dois anos, sempre dissemos que buscaríamos melhorias em várias direções.*

Foi assim com os congressos, com os cursos e todo o mais.

Essa preocupação que sempre tive de manter acesa dentro da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas a chama da inovação, buscando fazer a ser melhor a cada dia. Cada uma de nossas equipes, responsáveis por cada setor, tem se empenhado em conseguir vencer cada obstáculo. Transpor cada desafio diariamente.

E, com toda certeza, sem isso nenhuma das nossas mudanças teria dado tão certo. Ao longo dos últimos dois anos, tenho dito que é uma nova SBAC. Mais moderna. Focada especificamente em atender às necessidades de um mercado cada vez mais exigente e ao fazermos isso melhoramos sensivelmente todo o trabalho realizado para os laboratórios.

Sejam associados ou não.

Essa é outra grande diferença do trabalho que estamos fazendo. Nos preocupamos diretamente com cada um dos nossos associados sim, mas algumas batalhas beneficiarão a todos os laboratórios do país.

Muito deste trabalho requer força política e corporativismo e por isso mesmo sempre alerta a todos aqueles que ainda não fizeram a sua escolha: Associa-se a SBAC e busque o corporativismo: Use todo o conjunto de benefícios que a SBAC lhe oferece. Associa-se a SBAC.

Participe dos nossos congressos.

Participe do PNCQ.

Busque fazer a acreditação do seu laboratório pelo DICQ.

Esta é, sem a menor dúvida, a melhor forma de participar e contribuir para uma SBAC maior e muito mais forte.

Um abraço a todos,

*Dr. Ulisses Tuma
Presidente da SBAC*

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\$ 105,00

Exterior US\$ 50.

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: 4.500 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. Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), Dr. André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ), Dr. Carlos Eduardo Queiroz Lima (PE), Dra. Rita Gorete Amaral (GO), Dr. Alexandre Onofre (SE), Dra. Sílvia 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. Irineu 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), Dr. José Ronaldo Cardoso (MG) e Dr. Yoshio Hashimoto (PR)

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 - Asociación 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. Irineu Keiserman Grinberg (RS)

PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE DA QUALIDADE

Coordenação: Dr. José Abol Corrêa (RJ)

Assessores: Dr. André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ), Dr. Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), Dra. Elvira Maria Loureiro Colnago (RJ), Dr. Estevão José Colnago (RJ), Dr. Francisco Edison Pacifici Guimarães (RJ), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Dr. Marcos Kneip Fleury (RJ), Dra. Maria Isabel Figueiras Neufeld (RJ), Prof. Mateus Mandu de Souza (RJ), Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ), Dr. Paulo Murillo Neufeld (RJ), Dra. Thais 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 Espindola - Tesoureiro: Dr. Glauco de Paulo B. Silveira;

Paraná: Presidente: Dr. Marcelo Pilonetto - Vice-Presidente: Dr. Paulo Hartschbach - 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. Ligiannne Revoredo Bezerra - Secretária: Dra. Maria da Conceição Silva Fernandes - Tesoureira: Dra. Dóris Cavalcante Huguenin;

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

DELEGADOS DA SOCIEDADE

Alagoas: Dr. José Pereira Mendes Júnior; **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 Salvo;

São Paulo: Dr. Mário Hiroyuki Hirata; **Sergipe:** Dra. Maria da Conceição L. Oliveira; **Tocantins:** Dr. Francisco Wellington Macedo.

Efeito do tabagismo sobre o perfil lipídico e suas implicações em detentos internos do Presídio Estadual de Erechim-RS

Effect of tabagism on the lipid levels and their implications in internal prisoners of State Penitentiary of Erechim-RS

Marina Prigol, Fabrício Marmentini, Neiva Aparecida Grazziotin & Sandra Manoela Dias Macedo

RESUMO - O tabagismo é um hábito de impacto na saúde, sobretudo como interferente no perfil bioquímico e celular. Este estudo objetiva verificar alterações no perfil lipídico determinadas pelo hábito de fumar. Foram realizadas medições de colesterol total (CT), LDL-colesterol (LDL-C), HDL-colesterol (HDL-C), triglicerídeos (TG), glicemia e pressão arterial; além da determinação do grau de dependência à nicotina e do risco de desenvolvimento de doenças coronarianas. A população constitui-se de detentos internos do Presídio Estadual de Erechim, sendo 28 fumantes e 22 não-fumantes, com idade de 28,92 ($\pm 7,61$) anos. Amostras sanguíneas foram coletadas após jejum de 12 horas e as análises bioquímicas foram determinadas pela metodologia dos kits Labtest®; LDL-C foi determinado pela equação de Friedewald. Os resultados revelam aumento de CT, LDL-C e TG e redução nos níveis de HDL-C na população fumante, em relação ao grupo controle, principalmente no grupo que consome mais de 20 cigarros/dia. Os fumantes que ingressaram no hábito na adolescência apresentaram alto grau de dependência à nicotina e maior risco de doenças coronarianas, quando comparados aos demais. Os valores absolutos do perfil lipídico não foram estatisticamente diferentes, porém são relevantes clinicamente, já que se trata de uma população de adultos jovens que apresentam um estilo de vida homogêneo.

PALAVRAS-CHAVE - tabagismo, nicotina, perfil lipídico.

SUMMARY - *Tabagism is a habit of impact in the health, especially as an interference in the biochemistry and cellular profile. This study has the aim to verify alterations in the lipid levels determined by the habit of smoking. Besides total cholesterol (TC), LDL-cholesterol (LDL-C), HDL-cholesterol (HDL-C), triglyceride (TG), glycaemia and arterial pressure measurements, the determination of the degree of dependence to nicotine and the risk to develop coronary heart disease were observed. The population consists of internal prisoners of the State Penitentiary of Erechim, being 28 smokers and 22 non-smokers, with age of 28,92 ($\pm 7,61$) years old. Blood samples were collected after 12 hours of fasting and the biochemistry analyses were determined by the methodology of kits Labtest®; LDL-C was determined by the equation of Friedewald. The results presented an increasing of TC, LDL-C and TG and reduction in the levels of HDL-C in the smoking population, in relation to the group that was controlled, mainly in the group that consumes more than 20 cigarettes/day. The smokers who started smoking in the adolescence presented a higher degree of dependence to nicotine and greater risk of coronary heart disease, when compared with the others. The absolute values of the lipid levels were not statistic different; however, they are clinically notable, because it is a population of young adults who present a homogeneous life style.*

KEYWORDS - *tabagism, nicotine, lipid levels.*

INTRODUÇÃO

O tabagismo é hoje um dos principais problemas de saúde pública; a relação causa e efeito entre o tabaco e várias moléstias já está plenamente demonstrada. É notória a participação do tabaco no aumento e/ou agravamento de doenças cardiovasculares, pulmonares, circulatorias e numerosos tipos de câncer, contribuindo para o incremento da morbidade e mortalidade populacional (WHO, 2003).

As principais consequências do tabagismo são a aceleração da dislipidemia, com redução nos níveis de HDL-colesterol (HDL-C) e aumento do LDL-colesterol (LDL-C) e triglicerídios (TG). O consumo de cigarros provoca elevação da pressão arterial (ROCHA, 1998), aumento do fluxo sanguíneo nas artérias coronárias, aumento da contratilidade e débito cardíaco (COTRAN, 2000), aumento dos níveis plasmáticos de glicose, e ainda constitui-se como a principal causa de doenças respiratórias (MARQUES *et al.*, 2001). A longo prazo, é nítida a relação do tabagismo com a elevação da morbimortalidade (ROCHA, 1998). Todos os riscos tabágicos de morbiletalidade são dose-dependentes. Há relação linear da mortalidade com o número de cigarros consumidos por dia e o tempo de hábito (DOLL *et al.*, 1994).

A nicotina é o composto mais ativo da fumaça do cigarro e

um dos agentes tóxicos mais potentes, responsável pelo efeito adverso do tabagismo sobre a incidência de doença cardiovascular. Cada cigarro contém 7 a 9 mg de nicotina, dos quais se estima que pouco mais de 1mg seja absorvido pelo fumante. A nicotina é rapidamente absorvida pelos pulmões, atingindo o cérebro em dez segundos e sendo distribuída para todos os sistemas. A meia-vida da nicotina é de aproximadamente 60 minutos, significando que seis horas após ter consumido um cigarro, apenas 0,031mg de cada 1mg de nicotina que o tabagista inalou ainda resta em seu organismo, provocando: aumento da frequência cardíaca, aumento da pressão arterial, aumento da frequência respiratória, queda da temperatura corporal e da irrigação sanguínea cutânea, diminuição da diurese (aumenta vasopressina), aumento da glicemia, além de alterações no humor. Aproximadamente 80 a 90% da nicotina é metabolizada, principalmente no fígado mas, também, nos rins e pulmões. Uma fração significativa da nicotina inalada é metabolizada pelo pulmão. A cotinina é o principal metabólito da nicotina. Esta e outros metabólitos são excretados pela urina. A cotinina possui uma meia-vida longa; assim, se o tabagista fumou nos últimos dois dias, aparecerá cotinina na urina e/ou sangue do mesmo. A nicotina restante é filtrada do sangue pelo rim e é excretada na urina (TAYLOR, 1996; BENOWITZ *et al.*, 1999; MARQUES *et al.*, 2001).

Recebido em 06/10/2005

Aprovado em 20/09/2006

Laboratórios de Bioquímica Clínica e Toxicologia, Curso de Farmácia, Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus Erechim.

A nicotina provoca a diminuição da prostaciclina (PIG-2), que é o maior inibidor da aglomeração das plaquetas; as quais têm a dispersão diminuída, facilitando a formação de trombos. Simultaneamente, diminui prostaglandinas e eleva tromboxano A2, promovendo a maior aderência das plaquetas e inibindo sua dispersão. A nicotina também diminui a produção do óxido nítrico, importante na desagregação e dispersão das plaquetas, facilitando a formação de trombos (BAKER *et al.*, 2000; ISAKEN, 2002). Para o desenvolvimento da aterosclerose promove a diminuição das lipoproteínas de alta densidade (HDL) o que é prejudicial, já que por serem ricas de apolipoproteínas AI e AII as mesmas são protetoras da aterosclerose. Ao mesmo tempo, há aumento das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), importante fator para a aterosclerose (ISAKEN, 2002).

As HDL exercem importante papel na concentração de colesterol nos tecidos. Atuam no retorno do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, onde é removido na forma de ácidos biliares. As HDL têm ação protetora contra a doença arterial coronariana (MOTTA, 2000).

As LDL são formadas, principalmente na circulação, a partir das VLDL e, provavelmente, da degradação dos quilomícrons. LDL é a partícula lipídica mais aterogênica no sangue, pois constitui cerca de dois terços do colesterol total plasmático. Os níveis elevados de LDL estão diretamente associados no prognóstico de risco de aterosclerose coronariana (MOTTA, 2000).

Aterosclerose é um processo dinâmico, evolutivo, a partir de dano endotelial de origem multifatorial, com características de reparação tecidual. Os fatores de risco são capazes de lesar o endotélio vascular, causando disfunção endotelial. A partir do dano vascular, ocorre a expressão de moléculas de adesão que mediarão a entrada de monócitos em direção ao espaço intimal que, por sua vez, englobarão lipoproteínas modificadas (predominantemente LDL oxidadas), originando as células espumosas. Diferentes mediadores inflamatórios são liberados no espaço intimal, perpetuando e ampliando o processo, levando finalmente à formação da placa aterosclerótica (MARANHÃO, 2001).

Por meio do receptor cerebral de acetilcolina, a nicotina expressa a estimulação da linhagem de células endoteliais estimulando, inclusive, a angiogênese (CLOUSE, 2000). Pela propriedade angiogênica, a nicotina facilita o crescimento de placas de ateroma porque, recebendo mais sangue, estas se multiplicam mais. Esse processo recebe também o influxo das lipoproteínas de baixa densidade, que são aumentadas, e da diminuição de prostaciclina, ambos fatores desencadeados pela nicotina (PRATICO *et al.*, 2001).

Nas doses usadas pelos fumantes, a nicotina é tóxica e importante fator, ao lado da angiogênese, de danos como disfunção vascular e da aterosclerose (VILLABLANCA, 1998). Em suma, as placas de ateroma progridem pela ação da nicotina que provoca neovascularização, somada a vários outros fatores que desenvolvem aterosclerose (PRATICO *et al.*, 2001).

Há três fatores de risco possíveis de prevenção para doença coronariana: tabagismo, hipertensão arterial e colesterol alterado (elevação do colesterol LDL e redução do colesterol HDL). O tabagismo isolado dobra a possibilidade de doença cardíaca. O tabagismo, associado à alteração do colesterol ou à hipertensão, multiplica esse risco por quatro. O risco torna-se oito vezes maior quando os três fatores estão juntos (FRANKEN *et al.*, 1996).

Lesando as artérias cerebrais, a nicotina nos tabagistas concorre com um quarto dos acidentes vasculares cerebrais (AVC), inclusive derrames subaracnoideanos. Além disso, por meio de lesões no endotélio associadas a outros

processos da parede das artérias, a nicotina concorre para o desenvolvimento de aneurisma (ISAKEN, 2002).

O tabagismo não é apenas fator de risco de desordens cardiovasculares, mas também fator de prevalência e progressão de desordens microvasculares em pessoas com diabetes. Como inicialmente a nicotina causa uma rápida liberação de adrenalina, esta faz com que o organismo descarregue algumas reservas de glicose no sangue, prejudicando a saúde do diabético (HOLL *et al.*, 1998).

Existem estudos que mostram que fumantes apresentam tolerância à insulina, o que acarreta um aumento da taxa de glicose no organismo. Ao que tudo indica, nicotina produz resistência à insulina, anormalidade metabólica associada à síndrome de resistência à insulina, e aumenta a morbidade cardiovascular (ELIASSON *et al.*, 1997).

A expectativa de vida de um tabagista de elevado grau de dependência à nicotina é 25% menor que a de um não fumante. Nos últimos vinte anos, a educação e a persuasão não foram suficientes para promover uma mudança política, cultural e social relacionada ao comportamento de fumar. Investimentos continuados e mais consistentes voltados para a prevenção e o tratamento são necessários em função das projeções sobre a mortalidade no período de 2000 a 2049 (MARQUES *et al.*, 2001).

Tendo em vista a relação das lipemias com as doenças cardiovasculares, torna-se importante o monitoramento laboratorial dos níveis lipídicos, visando prevenir as cardiopatias e a aterosclerose, uma vez que essas patologias são consideradas a principal causa de morte nos países industrializados (LIMA, 1999). O objetivo deste estudo é determinar e relacionar o perfil lipídico e o grau de dependência à nicotina com o risco absoluto de eventos coronarianos. A população deste estudo é constituída de detentos internos do Presídio Estadual de Erechim, onde a dieta alimentar é idêntica, o que pode ser um fator de homogeneização da população.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizadas, no período de outubro a dezembro de 2004, medições de CT, TG, HDL-C e LDL-C em amostras sorológicas de 50 pacientes, sendo 28 fumantes e 22 não-fumantes (grupo controle), do sexo masculino, todos detentos internos do Presídio Estadual de Erechim, com idade entre 18 e 45 anos.

As amostras sanguíneas foram obtidas por punção venosa, após jejum de 12 horas. As análises bioquímicas (perfil lipídico e glicose) foram determinadas em forma de duplicata, pelo método enzimático-colorimétrico dos kits Labtest® e quantificadas em espectrofotômetro Labquest®; o LDL-C foi determinado pela equação de Friedewald: LDL-Colesterol = colesterol total - (HDL-Colesterol + triglicerídeos/5), válida se triglicerídeos < 400 mg/dL (MARANHÃO, 2001). Todos os voluntários responderam às questões do Teste de Fagerstrom para cálculo do grau de dependência à nicotina (SANTOS, 2001) e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

A metodologia deste estudo foi avaliada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim.

Após a determinação do perfil lipídico, foi calculado o Escore de Risco de Framingham (ERF) para determinação do risco absoluto de eventos coronarianos. O ERF calcula o risco absoluto de eventos coronarianos (morte, infarto agudo do miocárdio e angina de peito) em 10 anos. São atribuídos pontos para idade, pressão arterial sistólica (PS) e di-

astólica (PD), CT, HDL-C, fumo (qualquer cigarro no último mês) e presença ou não de diabetes melito (DM). Após o cálculo dos pontos deve-se consultar tabela de risco para ambos os sexos (LOURES-VALE, 2001).

Os resultados obtidos neste estudo foram analisados estatisticamente, usando-se os testes t de Student, presumindo variâncias equivalentes, QUI-Quadrado e Análise de Variância (ANOVA), onde foi utilizado um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05\%$).

RESULTADOS

A tabela I mostra os valores médios de CT, TG, HDL-C, LDL-C, glicose, PS, PD e idade, bem como desvio-padrão e valores de p, de não-fumantes (grupo controle) e de fumantes.

TABELA I
Lipídios séricos, glicose, pressão sanguínea e idade da população estudada

Parâmetros (mg/dL)	Não Fumantes n=22	Fumantes n=28	p
CT	150 ± 25,91	155,46 ± 30,28	0,5364
TG	104,95 ± 60,03	116,14 ± 82,46	0,5956
HDL-C	43,77 ± 12,22	41,67 ± 8,58	0,4935
LDL-C	84,04 ± 22,55	90,42 ± 28,41	0,4343
GLICOSE	78,81 ± 7,83	76,14 ± 6,90	0,1802
PS	12,13 ± 0,77	12,46 ± 0,70	0,1069
PD	8 ± 0,53	8,01 ± 0,54	1
IDADE	29,90 ± 9,13	28,11 ± 6,34	0,796

Observa-se elevação dos valores médios de CT, TG, LDL-C, PS e PD; diminuição da glicose, HDL-C e idade na população fumante, em relação à população controle, porém estes valores não são estatisticamente significativos ($p > 0,05$). O nível de colesterol total foi em média 155 ($\pm 30,28$) mg/dL na população fumante e 150 ($\pm 25,91$) mg/dL na população não fumante. Três voluntários, todos fumantes, apresentaram níveis de colesterol total acima dos valores de referência (208 mg/dL, 220 mg/dL e 224 mg/dL).

A tabela II mostra os valores de referência, para glicose, CT, TG, HDL-C, LDL-C para indivíduos com mais de 20 anos de idade, segundo as III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias (SANTOS, 2001a).

TABELA II
Valores de referência de glicose e lipídios para indivíduos maiores de 20 anos de idade

	Valores (mg/dL)	Categoria
Glicose	70 – 99	
Lipídios		
CT	<200	Ótimo
	200-239	Limítrofe
	≥240	Alto
LDL-C	<100	Ótimo
	100-129	Desejável
	130-159	Limítrofe
	160-189	Alto
	≥190	Muito Alto
HDL-C	<40	Baixo
	>60	Alto
TG	<150	Ótimo
	150-200	Limítrofe
	201-499	Alto

A tabela III apresenta os mesmos parâmetros da tabela I, mas a população fumante está dividida em relação ao número de cigarros consumidos por dia. Observa-se uma pequena elevação nos valores médios de CT, TG, LDL-C, PS e PD e diminuição da glicose, HDL-C e idade na população fumante, que consome mais de 20 cigarros/dia, em relação à população controle; porém, estes valores não são estatisticamente significativos ($p > 0,05$).

TABELA III
Lipídios séricos, glicose, pressão sanguínea e idade em não-fumantes e fumantes de acordo com o consumo de cigarros por dia

	Valores (mg/dL)	Categoria
Glicose	70 – 99	
Lipídios		
CT	<200	Ótimo
	200-239	Limítrofe
	≥240	Alto
LDL-C	<100	Ótimo
	100-129	Desejável
	130-159	Limítrofe
	160-189	Alto
	≥190	Muito Alto
HDL-C	<40	Baixo
	>60	Alto
TG	<150	Ótimo
	150-200	Limítrofe
	201-499	Alto

Das frações do colesterol, a taxa de colesterol HDL dos fumantes foi muito semelhante ao grupo controle. A taxa média de colesterol HDL da população fumante foi de 41,67 ($\pm 8,58$) mg/dL e do grupo controle foi de 43,77 ($\pm 12,22$) mg/dL (Tabela I). Porém, quando o grupo de fumantes foi dividido de acordo com o consumo de cigarros por dia, foi possível observar que nos indivíduos que consomem mais de 20 cigarros/dia esta taxa foi reduzida para 35,87 ($\pm 6,40$) mg/dL (Tabela III), a mais baixa taxa média encontrada, estando abaixo dos valores de referência (Tabela II).

Quanto ao colesterol LDL, a média no grupo fumante foi de 90,42 ($\pm 28,41$) mg/dL, enquanto no grupo controle esta se manteve em 84,04 ($\pm 22,55$) mg/dL (Tabela I). Os maiores índices foram encontrados na população que consome mais de 20 cigarros/dia (99,37 $\pm$ 24,76mg/dL) (Tabela III). Quatro indivíduos apresentaram valores acima dos valores de referência. Estes indivíduos consomem mais de 20 cigarros/dia e têm grau de dependência à nicotina muito elevado.

A taxa média de triglicerídios da população fumante foi 116,14 ($\pm 82,46$) mg/dL, o que não foi estatisticamente diferente do grupo controle (Tabela I). O nível de triglicerídios dos indivíduos fumantes do grupo que consome mais de 20 cigarros/dia foi de 139,62 ($\pm 93,82$) mg/dL, sendo maior em relação aos outros grupos de fumantes e ao grupo controle (104,95 $\pm$ 60,03 mg/dL) (Tabela III). Os dois indivíduos que apresentaram as maiores taxas de triglicerídios (344 mg/dL e 350 mg/dL) pertencem ao grupo que tem o hábito de fumar há mais de 25 anos.

O grau de dependência à nicotina, determinado através de Escore do Teste de Fagerstrom para Fumantes, apresentou-se bastante elevado na população fumante; sendo que 15 (54%) dos voluntários apresentaram grau de dependência à nicotina elevado ou muito elevado, 7 (25%) apresentaram grau de dependência médio e 6 (21%) apresentaram grau de dependência baixo ou muito baixo.

A Figura 1 apresenta a relação do grau de dependência à nicotina entre voluntários que começaram a fumar antes dos 20 anos de idade e voluntários que começaram a fumar após os 20 anos de idade. Observa-se que, dos indivíduos que começaram a fumar antes dos 20 anos, 13 (46,42%) apresentaram grau de dependência à nicotina elevado ou muito elevado, 7 (25%) apresentaram grau de dependência médio e 2 (7,14%), grau de dependência baixo ou muito baixo. Dos indivíduos que começaram a fumar após os 20 anos de idade, 2 (7,14%) apresentaram grau de dependência à nicotina elevado ou muito elevado, nenhum apresentou grau de dependência médio e 4 (14,28%) apresentaram grau de dependência baixo ou muito baixo.

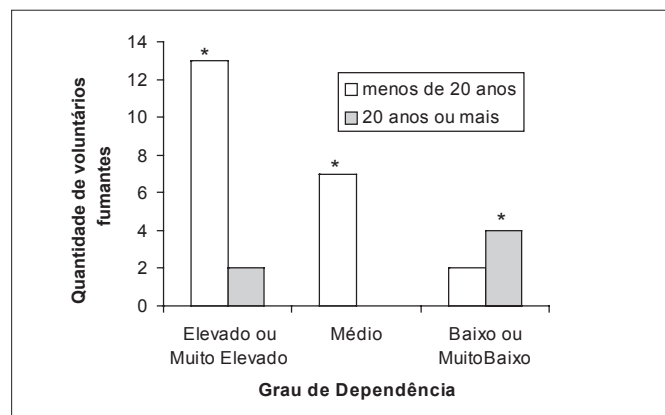


Figura 1 - Relação entre fumantes que adquiriram o hábito antes dos 20 anos de idade e o grau de dependência à nicotina (*p<0,01)

Quanto à pressão arterial sistólica e diastólica, não houve diferença significativa entre o grupo fumante (PS: $12,46 \pm 0,70$ mmHg e PD: $8,01 \pm 0,54$ mmHg) e o grupo controle (PS: $12,13 \pm 0,77$ mmHg e PD: $8,00 \pm 0,53$ mmHg) (Tabela I), já que ambos apresentaram valores normais. A pressão arterial não variou, também, em relação ao consumo de cigarros por dia.

O nível de glicose de jejum entre os fumantes foi em média $76,14 (\pm 6,90)$ mg/dL, e entre os não-fumantes foi de $78,81 (\pm 7,83)$ mg/dL (Tabela I), sendo que nenhum dos voluntários apresentou valor acima do valor de referência (99 mg/dL). Portanto, não se observou diferença significativa entre fumantes e não-fumantes, sendo que, em ambos os grupos, os valores apresentaram-se normais.

O ERF, ferramenta de auxílio na estratificação do risco de eventos clínicos coronarianos em dez anos, mostrou que a população fumante estudada, em média, apresenta baixo risco de desenvolver doença coronariana. Apenas um indivíduo apresentou médio risco e outro, alto risco; sendo ambos com mais de 40 anos de idade e com o hábito de fumar há mais de 25 anos. A população estudada não apresentou maior risco de doença coronariana.

DISCUSSÃO

A população de detentos internos tabagistas apresentou valores médios do perfil lipídico semelhante aos não-fumantes; porém, variações mais determinantes foram observadas em fumantes com maior tempo de hábito e grau de dependência à nicotina elevado. Em relação ao colesterol total, dos três indivíduos que apresentaram valores acima dos de referência, apenas aquele com a maior taxa de colesterol total teve relação direta com o maior tempo de hábito; porém todos apresentaram dependência elevada à nicotina, além de idade superior a 40 anos.

No estudo realizado por Schuitemaker (2002), que comparou os níveis de colesterol total em população de homens fumantes em diferentes idades, observa-se que, em fumantes, os níveis de colesterol total são significativamente maiores na população mais velha, quando comparada a jovens. Sendo que, no mesmo estudo, nos indivíduos não-fumantes, esses efeitos não foram demonstrados.

Quanto ao colesterol HDL, os indivíduos que consomem mais de 20 cigarros/dia apresentaram valores abaixo dos de referência. Segundo Santos (2001b), o tabagismo é o hábito de vida que tem maior impacto na saúde como um todo, sobretudo como interferente no perfil bioquímico e celular, atuando principalmente na redução dos níveis séricos de HDL-C, e essa redução está diretamente relacionada ao número de cigarros consumidos por dia. Este estudo está de acordo com tais observações, e essas baixas taxas de HDL-C representam um maior risco de desenvolvimento de doenças coronarianas, já que, segundo Isaken (2002), o HDL-C atua como fator protetor contra cardiopatias isquêmicas.

Os índices médios de LDL-C obtidos neste estudo foram mais altos na população fumante, em relação à população controle. Os valores médios de LDL-C ($99,37 \pm 24,76$ mg/dL) encontrados na população que consome mais de 20 cigarros/dia estão no limite máximo dos valores de referência (100 mg/dL), o que representa um risco futuro para o desenvolvimento de doenças coronarianas, principalmente a aterosclerose.

Para Rang e demais autores (2001), quando as concentrações de LDL-C estão elevadas, ocorre um aumento do risco de cardiopatia isquêmica, causada pela formação e deposição de placas de ateroma nas coronárias, o que oclui parcialmente um ou mais desses vasos e pode produzir o rompimento e a exposição de substâncias subendoteliais que atuam como foco para a trombose.

Os triglicerídeos apresentaram-se mais elevados em fumantes, principalmente no grupo que consome mais de 20 cigarros/dia. Segundo Sirisali (1992), fumantes apresentam níveis maiores de triglicerídios e VLDL-C, em seu estudo, quando comparados com não-fumantes. Um mecanismo que pode explicar estes efeitos seria que o hábito de fumar provoca um acréscimo nos níveis de ácidos graxos livres. Após a liberação desses ácidos graxos livres, eles são imediatamente captados pela albumina plasmática e são transportados para vários tecidos do organismo, particularmente o fígado. O acréscimo de triglicerídio hepático e VLDL-C são estimulados pelo influxo desses ácidos graxos. Contudo, é sabido que a nicotina acarreta alterações metabólicas significativas em seus usuários crônicos, principalmente alterações cardiovasculares, associadas diretamente ao perfil lipídico. Sendo assim, o hábito de fumar pode trazer sérios riscos à saúde da população – riscos que tendem a aumentar com a idade e com o maior tempo e intensidade da exposição ao tabagismo – e, portanto, deve ser combatido, como forma de melhorar a qualidade de vida e reduzir as doenças provocadas pelo mesmo.

Sabe-se que o ambiente penitenciário e as condições de vida advindas, submetem os detentos a um estado de estresse e ansiedade maiores. Pessoas com depressão ou com estresse consomem mais cigarros, chegando a três ou mais vezes que a população geral (ANDA *et al.*, 1990). Segundo Lohr e colaboradores (1992), é consenso geral que a nicotina nos indivíduos com distúrbios nervosos age como ansiolítica, favorecendo o processo psicológico. Isso porque a nicotina tem apreciável ação de liberação da dopamina, produzindo estado de euforia e prazer.

As pessoas com depressão fumam mais, desenvolvem nicotino-dependência mais profunda e têm maior risco de reincidência depois de tratamentos para deixarem de fumar. Nos fumantes de mais de 20 cigarros por dia, é comum encontrar sintomas de depressão, inclusive nos mais jovens, entre 21 e 30 anos de idade. Jovens com depressão recorrem ao tabaco e desenvolvem intensa dependência à nicotina. Indivíduos com distúrbios nervosos, como ansiedade, têm estreita associação com tabagismo e a nicotino-dependência (REYNOLDS *et al.*, 1988; BRESLAU *et al.*, 1998; NARDINI *et al.*, 2001).

Todos estes fatores justificam a difusão do tabaco na população estudada, constituída de detentos internos.

Cincipirine e demais autores (1997) observaram a importância da idade em que se adquire o hábito de fumar no desenvolvimento mais intenso da dependência à nicotina. Os indivíduos que começam a fumar entre 14 e 16 anos desenvolvem maior dependência à nicotina, em comparação com aqueles que fumam o primeiro cigarro depois dos 20 anos de idade. Os autores sugerem que a dependência à nicotina processa-se mais rapidamente e é mais forte nos que ingressam no tabagismo em torno dos 14 anos, sendo mais difícil de superá-la, obrigando-os a consumir maior quantidade de cigarros continuamente, com sérias consequências à saúde.

No presente estudo, o grau de dependência à nicotina esteve diretamente relacionado com a idade de início ao hábito tabágico. Os indivíduos que iniciaram o hábito antes dos 20 anos apresentaram grau de dependência mais frequentemente elevado a muito elevado, o que foi estatisticamente comprovado ($p < 0,01$). Dentre os fumantes estudados, 22 (78,57%) começaram a fumar antes dos 20 anos de idade e, destes, 11 (50%) adquiriram o hábito antes de completar 15 anos.

Estudo com mais de 30 mil homens e cerca de 19 mil mulheres, ambos adolescentes, demonstrou que os iniciados no tabagismo antes dos 20 anos de idade desenvolveram intensa dependência, traduzida pelo aumento de consumo de cigarros na idade adulta (SHAHI *et al.*, 1999).

A população estudada não apresentou maior risco de doença coronariana, provavelmente, pelo fato de ser composta em sua maioria de adultos jovens, pois a média de idade do grupo fumante foi de 28,11 ($\pm 6,34$) anos (Tabela I). Assim, a maior parte ainda não apresenta risco de doenças coronarianas, já que este tende a se intensificar com o aumento da idade.

Neste estudo, buscou-se uma população bastante homogênea quanto aos hábitos de vida, idade e sexo como forma de diminuir a variabilidade biológica e obter resultados mais relacionados ao tabagismo. Porém, em função do número de amostras ser pequeno e de haver vários subgrupos, o valor de p , que representa significância estatística, não foi significativa matematicamente ($p > 0,05$). Para Doria (1999), normalmente existe uma variabilidade entre as amostras que, quando observadas em um grande número, se dilui, permitindo, assim, serem vistas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Porém, quando as amostras são pequenas, ou quando há muitos subgrupos comparados entre si, como é o caso, as chances matemáticas de aparecer uma significância estatística são quase nulas. Conhecendo-se as características da população estudada, bem como as relacionadas com o número da amostra, pode-se, conforme Sokal (1995), considerar os valores obtidos, apesar de não comprovados matematicamente, como significantes clinicamente.

Os resultados obtidos neste estudo demonstram haver uma

elevação significativa clinicamente no colesterol total, triglicerídeos e LDL-C; e redução de HDL-C no grupo de fumantes que consomem mais de 20 cigarros/dia em relação à população controle e aos outros grupos de fumantes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a todos os voluntários que participaram deste estudo, à direção e funcionários do Presídio Estadual de Erechim, pela colaboração e ao PIIC - URI - Campus de Erechim pelo apoio financeiro ao projeto.

REFERÊNCIAS

- Anda, R. F.; Williamson, D. F.; Escobedo, L. G.; Mast, E. E.; Giovino, G. A.; Remington, P. L. Depression and the dynamics of the smoking: a national perspective. *JAMA* 1990; 264(12): 1541-5.
- Baker, F.; Ainsworth, S. R.; Dye, J. T.; Crammer, C.; Thun, M.J.; Hoffmann D.; Repace, J. L.; Henningfield, J. E.; Slade, J.; Pinney, J.; Shanks, T.; Burns, D. M.; Connolly, G. N.; Shopland, D. R. Health risks associated with cigar smoking. *JAMA* 2000; 284(6): 735-40.
- Benowitz, N.L.; Perez-Stable, E.J.; Fong, I.; Modin, G.; Herrera, B.; Jacob, P. Ethnic Differences in N-Glucuronidation of Nicotine and Cotinine. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1999; 291(3): 1196-203.
- Breslau, N.; Peterson, E. L.; Schultz, L. R.; Chilcoat, H. D.; Andreski, P. Major depression and stages of smoking. A longitudinal investigation. *Archives General Psychiatry* 1998; 55(2): 161-6.
- Cincipirini, P. M.; Hecht, S. S.; Henningfield, J. E.; Manley, M. W.; Kramer, B. S. Tobacco addiction: Implication for treatment and cancer prevention. *Journal National Cancer Institute* 1997; 89(24): 1852-67.
- Clouse, W. D.; Yamaguchi, H.; Philips, M. R.; Hurt, R. D.; Fitzpatrick, L. A.; Moyer, T. P.; Rowland, C.; Schaff, H. V.; Miller, V. M. Effects of transdermal nicotine treatment on structure and function of coronary artery by pass grafts. *Journal Applied Physiology* 2000; 89(3): 1213-23.
- Cotran, R.S.; Kumar, V.; Collins, T. Robbins Patologia Estrutural e Funcional. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A; 2000.
- Doll, R.; Peto, R.; Hall, E.; Wheatley, K.; Gray R. Mortality in relation to smoking: 40 year's observations on British doctors. *British Medicine Journal* 1994; 309(6959): 911-8.
- Doria Filho, U. Introdução a Bioestatística. São Paulo: Negócio Editora; 1999.
- Eliasson, B.; Attvall, S.; Taskinen, M.R.; Smith, U. Smoking cessation improves insulin sensitivity in healthy middle-aged men. *European Journal Clinical Investigation* 1997; 27(5): 450 - 6.
- Franken, R.A.; Nitrini, G.; Franken, M.; Fonseca, A.J.; Leite, J.C.T. Nicotina: Ações e Interações. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 1996; 66(6): 261-7.
- Holl, R.W.; Grabert, M.; Heinze, E.; Debatin, K.M. Objective Assessment of Smoking Habits by Urinary Cotinine Measurement in Adolescents and Young Adults With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 1998; 21(5): 787-791.
- Isaksen, J.; Egge, A.; Waterloo, K.; Romner, B.; Ingebrigtsen, T. Risk factor for aneurysmal subarachnoid haemorrhage: The Tromsø study. *Journal Neurology Neurosurgery Psychiatry* 2002; 73(2): 185-7.
- Lima, J.C.C.; Moreira, A.; Sodré, F.L. Uma abordagem bioquímica no diagnóstico das síndromes coronarianas agudas (infarto agudo do miocárdio). *Revista NewsLab*, 7(33):142-154, 1999.
- Lohr, J. B.; Flynn, K. Smoking and schizophrenia. *Schizophrenia Research* 1992; 8(2): 93-102.
- Loures-Vale, A. A. Estratificação de risco e metas lipídicas para a prevenção da aterosclerose. In: III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretrizes de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2001; 77: suplemento III.
- Maranhão, R.C. Metabolismo Lipídico. In: III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretrizes de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2001; 77: suplemento III.
- Marques, A.C.P.R.; Campana, A.; Gigliotti, A.P.; Lourenço, M.T.C.; Ferreira, M.P.;

- Laranjeira, R. Consenso sobre o Tratamento da Dependência de Nicotina. Revista Brasileira de Psiquiatria 2001; 23(4): 200-14.
- Motta, T.V. Bioquímica Clínica: princípios e interpretações. 3. ed. Porto Alegre: Médica Missau, 2000.
- Nardini, S.; Castellani, P.; Carrozzi, L. Smoking cessation as a therapeutic and preventive intervention: a meetings report. Monaldi Arch Chest Dis 2001; 56(6): 540-4.
- Pratico, D.; Tillman, C.; Zhang, Z. B.; Li, H.; Fitz Gerald, G. A. Acceleration of atherogenesis COX-1 dependent prostanoid formation in low lipoprotein receptor knockout mice. Proceeding National Academy Sciences USA 2001; 98(6): 3358-63.
- Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M. Farmacologia. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2001.
- Reynolds, I.; Rob, M. I. The role of family difficulties in adolescent depression drug-taking and others problems behaviours. Medical Journal Australia 1988; 149(5): 250-6.
- Rocha, M. O. C.; Pedroso, E. R. P.; Fonseca, J. G.; Silva, O. A. Terapêutica Clínica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1998.
- Santos, R.D. III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretrizes de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arquivos Brasileiros de Cardiologia 2001a; 77: suplemento III.
- Santos, J.E. Mudança do estilo de vida. In: III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretrizes de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arquivos Brasileiros de Cardiologia 2001b; 77: suplemento III.
- Schuitemaker, G.E.; Dinant, G.J.; Van Der Pol, G.A.; Van Wersch, J.W.J. Relationship between smoking habits and low-density lipoprotein-cholesterol, high-density lipoprotein-cholesterol, and triglycerides in a hypercholesterolemic adult cohort, in relation to gender and age. Clinical Experimental Medicine 2002; 2(2): 83-8.
- Shahi, G. S.; Mochhala, S. M.; Lee, E. J.; Das, P. N. Studies on the interaction of MPTP (1-methyl-4-phenyl 1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine) with the cytochrome P-450 enzyme system--clues to a possible aetiological factor in Parkinson's disease. Annals Academy Medicine Singapore 1989; 18(1): 93-7.
- Sirisali, K.; Kanluan, T.; Pongvarin, N.; Prabhant, C. Serum Lipid, Lipoprotein-Cholesterol and Apolipoproteins A-I and B of smoking and Non-Smoking Males. J Med Assoc Thai 1992; 75(12): 709-13.
- Sokal, R.R. Biometry the principles and practice of statistics in biological research. 3. ed. United States of America: W.H. Freeman and Company, 1995.
- Taylor, P. Agentes que Atuam na Junção Neuromuscular e nos Gânglios Autônomos. In: Hardman, J. G.; Limbird, L. E. Goodman & Gilman - As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 9. ed. Rio de Janeiro: Mac Graw Hill, 1996.
- Villablanca, A. C. Nicotine stimulates DNA synthesis and proliferation in vascular endothelial in vitro. Journal Applied Physiology 1998; 84(6): 2089-98.
- WHO (World Health Organization). Confronting the Tobacco Epidemic in an Era of Trade Liberalization. Ano de expedição: 2003 [acessado em 18 de novembro de 2004];
- Disponível em: <http://www.inca.gov.br/tabagismo/frameset.asp?item=dados-num&link= mundo.htm>.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Sandra Manoela Dias Macedo
Av. Jaguaré, 297/115 - Jaguaré
cep 05346 000 - São Paulo/SP - Brasil
email: sandramacedo@uri.com.br

34º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 7º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

10 a 14 de junho de 2007

Local:
Centro de Convenções - EXPOMINAS
Belo Horizonte - MG



Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Aspectos Gerais nas Infecções por *Helicobacter pylori*

Revisão

General aspects of *Helicobacter pylori* infections - Review

Jullyana S. Siqueira^{1*}, Pollyana S.S. Lima², André S. Barreto³ & Lucindo J. Quintans-Júnior⁴

RESUMO - O *Helicobacter pylori* é uma bactéria de distribuição cosmopolita que acomete cerca de metade da população mundial. Esse agente patológico está associado a vários distúrbios gástricos, entre eles a gastrite crônica, o câncer gástrico e a úlcera péptica. Vários testes diagnósticos encontram-se disponíveis para o diagnóstico da infecção por *H. pylori* entre eles os testes da cadeia de polimerase (PCR), urease, histologia e cultura. Nesse contexto, o presente estudo objetivou mostrar os aspectos gerais nas infecções por *H. pylori* e seu diagnóstico.

PALAVRAS-CHAVE - *Helicobacter pylori*, câncer gástrico, úlcera péptica, diagnóstico.

SUMMARY - *Helicobacter pylori* is a bacteria which is strongly associated with peptic ulcer and cancer gastric. The *H. pylori* infections can be diagnosed either by invasive techniques requiring endoscopy and biopsy (histologic examination, rapid urease test, culture, polymerase chain reaction) or by one of several noninvasive testing methods—serologic tests, the urea breath test, and the stool antigen test. In those circumstances, the scope of the review is to study the general aspects of *H. pylori* infection and diagnostic.

KEYWORDS - *Helicobacter pylori*, cancer gastric, peptic ulcer, diagnostic.

INTRODUÇÃO

O *Helicobacter pylori* foi isolado pela primeira vez, em 1983, por Warren e Marshall, na Austrália, (Prêmio Nobel de Medicina – 2005) a partir de fragmentos de biópsia gástrica de pacientes com gastrite crônica e úlcera péptica. Entretanto, data do século passado o encontro de bactérias espiraladas no estômago de animais. Krienitz (1906) foi o primeiro a observar “espiroquetas” no estômago humano (TONELLI; FREIRE, 2000).

O *Helicobacter pylori* é uma bactéria Gram negativa, microaerófila e espiralada (LEVINSON; JAWETZ, 1994), em forma de S ou em bastonete curvo, que mede cerca de 3 a 5 µm de comprimento por 0,5 µm de largura, tem parede celular externa lisa e possui de quatro a seis flagelos unipolares embainhados e com bulbo terminal (TONELLI; FREIRE, 2000). É provavelmente o agente de infecção crônica mais comum em seres humanos, coloniza especificamente a mucosa gástrica e as microvilosidades gástricas das células epiteliais e acredita-se que contribua diretamente na destruição da célula gástrica por produção de uma citotoxina vacuolizante, bem como enzimas tóxicas, especialmente lipase, urease e proteases, desregulando os fatores defensivos do epitélio (OPLUSTIL *et al.*, 2001).

Embora metade da população mundial esteja infectada com este organismo, 80% desses indivíduos permanecem sem nenhuma evidência clínica de doença (WISNIEWSKI; PEURA, 1997) e somente uma pequena percentagem (provavelmente menos que 3%) dos indivíduos que apresentam *H. pylori* desenvolvem neoplasias relacionadas pela sua presença, indicando que outros fatores estão envolvidos (HANSSON, 1993; WATANABE, 1997), portanto, vários fatores, inclusive a aquisição na infância, o tipo de cepa da bactéria, a predisposição genética do hospedeiro e o meio ambiente parecem estar relacionados a sua fisiopatogenia (WISNIEWSKI; PEURA, 1997).

O câncer de estômago é considerado o segundo mais frequente tipo de câncer e o segundo maior causador de morte por câncer no mundo (CORREIA, 1996; NEWNHAM

et al., 2003). No Brasil é a mais frequente neoplasia do sistema digestivo, ocupando o primeiro lugar na escala de ocorrência entre os homens e o quarto lugar entre as mulheres (ARRUDA *et al.*, 1997).

EPIDEMIOLOGIA

O *H. pylori* tem distribuição cosmopolita, e estima-se que cerca de metade da população mundial esteja infectada. A prevalência da infecção varia com a idade e o nível socioeconômico. A soroprevalência aumenta progressivamente com a idade (MITCHELL *et al.*, 2003), e é igualmente encontrada em homens e mulheres (MCCALLION *et al.*, 1995).

Países em desenvolvimento podem ocorrer taxas de soropositividade elevadas em faixas etárias mais jovens (SHERMAN *et al.*, 2002). No Brasil, um estudo em crianças e jovens até 18 anos, de famílias de baixa renda, evidenciou um percentual de 34% de soropositivos, que aumenta significativamente com a idade (BEDOYA *et al.*, 2003). Em países desenvolvidos, a infecção em crianças é menos frequente. A prevalência da infecção é influenciada por fatores como renda, nível de instrução e condições de moradia (SILVA *et al.*, 2004).

O ser humano é o principal reservatório de *H. pylori*, não tendo ainda sido encontrados animais que sirvam de reservatórios significantes. A infecção não é autolimitada e pode persistir por muitos anos. Reservatórios ambientais também podem existir. Águas contaminadas são fontes importantes em determinadas áreas (GLYNN *et al.*, 2002). A transmissão interpessoal é, entretanto, considerada a mais importante, conforme evidenciado em estudos com famílias que moram em condições de aglomeração. Estudos utilizando tipagem de DNA confirmaram que membros de uma mesma família tendem a ser infectados pela mesma cepa de bactéria (ROMA-GIANNIKOU *et al.*, 2003). A via pela qual ocorre a infecção pode ser fecal-oral ou oral-oral. É importante lembrar que a infecção pode ser transmitida através de endoscópios se a desinfecção apropriada não for executada (BROWN, 2000).

Recebido em 23/01/2006
Aprovado em 20/09/2006

¹Farmacêutica-Bioquímica responsável técnica pela Farmácia Popular do Brasil no Município de Juazeiro-BA.

²Odontóloga pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

³Fisioterapeuta, Professor Auxiliar, Faculdade Nobre de Feira de Santana (FAN)

⁴Farmacêutico, Professor Adjunto I, Colegiado de Medicina - Universidade Federal do Vale do São Francisco (CMED/UNIVASF)

TRANSMISSÃO

Várias pesquisas sobre o modo de transmissão de *H. pylori* estão sendo desenvolvidas, e pode-se dizer que esta é uma das áreas mais estudadas, discutidas e controversas desse, recém descoberto, microrganismo. As vias de infecção mais aceitas atualmente incluem a fecal-oral e a oral-oral (MARSCHALL, 2000). Não há possibilidade de transmissão através do ato sexual comum, e a infecção por insetos vetores é praticamente nula (ESLICK, 2001).

Transmissão Fecal-Oral

Em 1992, foi publicado o primeiro trabalho sobre o isolamento de *H. pylori* em fezes humanas. Nesse estudo, isolou-se a bactéria em fezes de crianças e adultos infectados na Gâmbia. Alguns anos mais tarde, esta foi isolada em fezes de indivíduos dispépticos (*H. pylori* - positivos). Entretanto, outros trabalhos evidenciaram que *H. pylori* está bem adaptado na passagem do estômago para o duodeno. Indicando que a bile possui um efeito letal para a bactéria, e por isso a sua sobrevivência após esta transição parece ser incomum (KAPADIA, 1997).

Caso o microrganismo seja transmitido via fecal-oral, a água seria um provável meio de propagação. Em um estudo epidemiológico sobre o modo de transmissão de *H. pylori* em crianças peruanas, foi proposto uma associação entre a prevalência do microrganismo e a água potável (KODAIRA *et al.*, 2002).

Transmissão Oral-Oral

Segundo Artherton (1997), existem indícios de que o *H. pylori* possa permanecer ou transitar pela área bucal, na placa dentária ou saliva. Além disso, sua presença no suco gástrico indica a possibilidade de transmissão oral-oral.

Há evidências de que o vômito e o refluxo esofágico possam ser considerados como um meio de propagação do microrganismo, uma vez que a bactéria já foi detectada no suco gástrico de pacientes infectados. Desse modo, propõe-se uma maior atenção à possível transmissão gastro-oral, que ocorreria quando um indivíduo entrasse em contato com o vômito contaminado.

Em estudos sobre a investigação da transmissão de *H. pylori*, foram isoladas bactérias da placa dentária de pacientes positivos ao microrganismo. Posteriormente, em um estudo com pacientes dispépticos da Índia, em cerca de 98% dos pacientes a presença dessa bactéria na placa dentária foi detectada (BUJANOVER *et al.*, 1997).

PATOGENIA

Os mecanismos pelos quais a bactéria produz diferentes quadros patológicos no estômago e no duodeno não são totalmente conhecidos. Presumivelmente, fatores da bactéria, do hospedeiro e ambientais contribuem para estabelecer evoluções clínicas diversas. Dentre os principais mecanismos patogênicos envolvidos estão os fatores de virulência do microrganismo, a resposta inflamatória da mucosa e a alteração da secreção ácida gástrica.

Fatores de Virulência

Aderência

O *H. pylori* tem um tropismo pela mucosa gástrica, aderindo à célula epitelial e, às vezes, penetrando entre elas. A adesão parece atuar na patogênese através da lesão direta

da célula, facilitando para que os produtos tóxicos produzidos pela bactéria sejam liberados nas proximidades da célula epitelial e atuando na estimulação da produção de citocinas pela célula epitelial (MAHDAVI *et al.*, 2002)

Urease

A bactéria tem uma potente atividade ureásica que participa da colonização gástrica, permitindo sua sobrevivência em um meio ácido. A urease hidrolisa a uréia, presente no estômago, em amônia e CO₂ (VOLAND *et al.*, 2003). A amônia tem atividade citotóxica, aumentando a permeabilidade da célula epitelial para prótons, e talvez participe como mediador da resposta imune local, já que é potente ativador de monócito *in vitro* (GOBERT *et al.*, 2002).

Fosfolipase

As fosfolipases A2 e C afetam a integridade celular e a camada hidrofóbica da barreira gástrica, podendo permitir a retrodifusão de íons hidrogênio (MISEWICZ, 1995).

Citotoxina e Gene cagA

Todas as cepas são portadoras do gene vacA (gen da citotoxina vacuolizante); entretanto, apenas algumas cepas são produtoras da citotoxina vacuolizante, que exerce um efeito citopático no epitélio. Estas cepas são mais comumente isoladas de pacientes com ulcera péptica, atrofia gástrica e câncer gástrico (ARTHERTON *et al.*, 1997).

Censini *et al.* (1996) afirma que o gene cagA (gene associado à citotoxina) é um marcador da produção de citotoxina e codifica a proteína cagA. Pacientes com úlcera duodenal, gastrite atrófica e carcinoma gástrico são mais comumente infectados com cepas cagA-positivas do que cagA- negativas. As cepas cagA positivas são mais virulentas, associadas a maior grau de infiltração de polimorfonucleares neutrófilos, produção de interleucina-8 e têm íntima associação com cepas vacA S1.

Resposta inflamatória da mucosa

Hunt *et al.* (1995) e Misiewicz (1995), relatam que a infecção pelo *H. pylori* induz um infiltrado inflamatório na mucosa gástrica de neutrófilos, monócitos, linfócitos e plasmócitos e a expressão de citocinas pró-inflamatórias como interleucinas (1,2,6 e 8), fator de necrose tumoral (alfa) e interferon- γ .

Embora as respostas inflamatória e imune possam agravar as lesões degenerativas do epitélio, desencadeadas pela bactéria, são incapazes de eliminá-la. Algumas cepas (cagA) parecem estar envolvidas na magnitude e característica da produção de citocinas (IL-8), sendo portanto de importância no grau de inflamação gástrica crônica e no espectro da doença. Mas, o mais provável, é que a intensidade e a forma das respostas inflamatória e imune, associadas à virulência da cepa, possam estabelecer doenças gastroduodenais diferentes.

Alterações da Secreção Ácida Gástrica

É de longa data o conhecimento da importância da secreção ácida na patogênese da úlcera péptica. Os pacientes com úlcera duodenal apresentam várias alterações na produção de ácido: prejuízo da inibição ácida na liberação da gastrina, maior secreção de ácido basal e pós-estímulo e maior acidez no duodeno (TONELLI; FREIRE, 2000).

Hoje já está bem estabelecido que a infecção pelo *H. pylori* é associada com a diminuição da liberação da somatostatina e aumento da liberação de gastrina pelo antro gás-

trico. A somatostatina diminui a liberação de gastrina. Essas alterações são encontradas de forma similar nos indivíduos infectados, com ou sem úlcera duodenal, e retornam ao normal após a erradicação da bactéria. A menor liberação de somatostatina pode ser mediada pelo fator de necrose tumoral e pelas células mononucleares (HUNT *et al.*, 1995; MISIEWICZ, 1995).

A infecção pelo *H. pylori* também se acompanha de maiores níveis de ácido no duodeno, decorrente da maior produção de ácido pelo estômago e menor produção de bicarbonato pelo duodeno que são revertidos com a erradicação. A maior produção de ácido predispõe a metaplasia gástrica no duodeno. A hipótese é que a bactéria antes restrita ao estômago colonizará também as áreas de metaplasia gástrica no duodeno. Como resultado, ocorrerá duodenite crônica que facilita a retrodifusão de íons hidrogênio, e subsequente ulceração (TONELLI; FREIRE, 2000).

PATOLOGIA

Segundo Vaira *et al.* (2000), a colonização do tecido gástrico pelo *H. pylori* é quase sempre acompanhada por uma resposta inflamatória na mucosa subjacente.

A fase aguda da infecção não é comumente detectada na prática clínica. Nessa fase, após a contaminação pela bactéria, há um período de poucos dias, associados a um quadro histopatológico de denso infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos e um exsudato aderente à superfície epitelial gástrica, de curta duração. Concomitantemente, ocorre uma hipocloridria com retorno da secreção ácida gástrica após alguns meses.

O infiltrado inflamatório agudo dá lugar à gastrite crônica superficial ativa, de leve a grave intensidade, com maior densidade de células inflamatórias no antro do que no corpo gástrico, e que se acompanha de alterações epiteliais. Como a infecção habitualmente não é erradicada naturalmente pelo hospedeiro, a manutenção da inflamação durante anos pode levar à progressão da gastrite crônica superficial do antro às porções mais proximais do estômago (corpo e fundo), com conseqüentes gastrite atrófica e metaplasia intestinal, em alguns indivíduos (KODAIRA *et al.*, 2002).

As alterações histopatológicas da criança infectada são um pouco diversas daquelas do adulto. O infiltrado inflamatório é geralmente mais leve e consiste, principalmente, de linfócitos e células plasmáticas, com neutrófilos podendo estar ausente nas crianças de países desenvolvidos. Nas crianças de países em desenvolvimento, o infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos é maior, mais de menor intensidade do que o dos adultos. Presença de atrofia glandular e metaplasia intestinal é rara em pediatria (TONELLI; FREIRE, 2000). Não há, necessariamente, um aspecto macroscópico da infecção gástrica pelo *H. pylori*, e é comum uma dissociação entre macro e microscopia, quando o estômago é endoscopicamente normal. Entretanto a criança infectada apresenta freqüentemente um aspecto macroscópico micronodular no antro gástrico, que é patognomônico da infecção pelo microrganismo. Não se sabe ainda o seu significado e o porquê da sua presença principalmente na criança, e mais freqüentemente nas com úlcera duodenal. Alguns autores a associam a um maior número de folículos linfóides na lâmina própria, à semelhança da hiperplasia nodular linfóide benigna do intestino. Nós, entretanto, observamos uma associação entre a presença de folículos linfóides na mucosa gástrica e a infecção pelo *H. pylori*, independentemente da presença ou não de antrite nodular (TONELLI; FREIRE, 2000).

DIAGNÓSTICO

Vários testes diagnósticos encontram-se disponíveis para o diagnóstico da infecção por *H. pylori*. Estes testes podem ser através de métodos invasivos ou não-invasivos. Os invasivos são aqueles que dependem da realização de endoscopia para coleta de biópsias: cadeia de polimerase (PCR), teste da urease, histologia e cultura. Os não-invasivos incluem sorologia e teste respiratório com uréia marcada com isótopos de carbono (¹⁴C e ¹³C) (CUTLER *et al.*, 1998). A escolha do teste depende da situação clínica do paciente (TONELLI & FREIRE, 2000).

Reação de Cadeia em Polimerase

O PCR (*Polymerase Chain Reaction*) é outro método usado para a detecção do *H. pylori*. Este apresenta altíssima sensibilidade e especificidade, podendo ser feito diretamente das biópsias gástrica ou duodenal, do suco gástrico, da placa dentária, da saliva, da cultura e até mesmo das fezes. Os genes *rRNA* 16s *rRNA*, *ureA* e o *glmM* têm sido utilizados na identificação da bactéria. Além disso, por sua alta sensibilidade, o PCR é muito utilizado em estudos epidemiológicos ligados à identificação de reservatórios ambientais, e também em trabalhos de determinação do modo de transmissão desta bactéria (LEHOURS *et al.*, 2003).

Teste da Uréase

O teste da urease em fragmento de tecido é baseado na potente atividade ureásica da bactéria. Ele é altamente específico e sensível e é o teste mais usado para o diagnóstico endoscópico. Um fragmento de biópsia do antro ou um fragmento do antro e outro do corpo gástrico são introduzidos imediatamente após a coleta em um substrato contendo uréia e um indicador de pH (vermelho fenol). A urease hidrolisa a uréia em amônia e dióxido de carbono, com conseqüente aumento do pH e mudança da cor, do meio, de amarelo para rosa. Quando a mudança de cor ocorre dentro das primeiras 24 horas, o teste é considerado positivo (ORNELLAS *et al.*, 2000).

Apesar das várias preparações disponíveis no mercado, o teste de urease não tamponado tem mostrado acurácia comparável e custo cumulativo menor (CHU *et al.*, 1997), sendo largamente utilizados na prática clínica, entretanto não fornece informações sobre a intensidade da inflamação. Devido à possibilidade de contaminação por bactérias produtoras de urease como *Proteus sp* e *Pseudomonas sp*, levando a alterações na cor do teste durante a estocagem, preconiza-se que a preparação contendo uréia e o marcador sensível de pH seja feita diariamente (NG, 1997).

Histologia

Pereira *et al.* (2001) afirma que embora a técnica histológica não esteja livre de falhas, a especificidade e a sensibilidade desta são altas. Além da identificação da bactéria, a análise histopatológica permite avaliar o tipo e a intensidade da inflamação da mucosa gástrica.

Este exame é feito após a endoscopia, com a retirada de fragmento, no qual utiliza-se uma variedade de colorações para detectar a bactéria, sendo necessárias várias horas ou mesmo até 2 dias para se obter o resultado. O microrganismo pode ser identificado por diversas colorações histológicas, como Giemsa, hematoxilina e eosina Warthin-Starry, Steiner, carbolfucsina.

Este método pode apresentar falhas e inconveniências, tanto pela falta de visualização e identificação da área mais afetada, como por coletas feitas em locais inadequados, de-

vido à distribuição desigual do organismo na mucosa gástrica (ROCHA, 1996).

Cultura

Helicobacter pylori é uma bactéria muito adaptada ao seu habitat e de crescimento lento, sendo assim é muito difícil cultivá-la *in vitro*. O crescimento pode ser afetado por vários fatores como o número de biópsias, o meio, a duração e a temperatura do transporte e o próprio método de cultivo. Sua detecção pode ser influenciada também pelo uso prévio de alguns medicamentos, usados por pacientes em tratamentos de dispepsia, como o omeprazol, alguns antimicrobianos, bismuto ou benzocainas. É possível que resíduos de glutaraldeído, presentes na pinça de coleta de biópsia, possa afetar a viabilidade do microrganismo.

A cultura é o método mais específico para identificação da bactéria e o único que determina a suscetibilidade aos antimicrobianos (MALFERTHEINER *et al.*, 2002). Podem ser usados vários meios de cultura, e é necessária uma atmosfera microaerofílica (5-6 % de O₂, 8-10% CO₂, 80-85% N₂). São poucos os centros no Brasil que trabalham com essa técnica diagnóstica, que é cara, requer um laboratório especializado e é importante para o estudo de fatores de virulência e tipagem genética. Ela, na verdade, tem sido usada apenas no âmbito de pesquisa (TONELLI; FREIRE, 2000).

Sorologia

Este exame se baseia na detecção de anticorpos específicos [imunoglobulina G (IgG)] contra esta bactéria, encontradas em amostra de soro das pessoas infectadas. Geralmente são realizados através da técnica de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) ou látex-aglutinação. Resultados falso-negativos podem ocorrer em crianças, idosos e em indivíduos imunodeprimidos, que não desenvolvem reação imunológica contra a infecção (PORTORREAL; KAWAKAMI, 2002).

Vários métodos sorológicos têm sido descritos na literatura (KHANNA *et al.*, 1998), no entanto, o método ELISA parece ser o mais sensível e específico em pacientes adultos de países desenvolvidos (PORTORREAL; KAWAKAMI, 2002). A recomendação é de que o teste sorológico deve ser validado e padronizado localmente antes de seu uso (FELDMAN; EVANS, 1995). Por ser um exame não-invasivo, o teste sorológico tem sido utilizado em estudos epidemiológicos (BLEECKER *et al.*, 1994), mas por ser infecção restrita à mucosa, em alguns casos, a estimulação antigênica pode ser lenta e resultados falso-negativos podem ocorrer em poucas semanas ou meses após nova infecção (MÉGRAUD, 1996).

Teste Respiratório com Uréia Marcada

O princípio do teste respiratório com uréia marcada é o mesmo do teste da urease: produção pelo *H. pylori* de grandes somas de urease. O paciente ingere uma solução de uréia marcada ¹⁴C e ¹³C. Sob ação da urease de *H. pylori*, a uréia é convertida em amônia e bicarbonato, o qual é absorvido e convertido em CO₂ nos pulmões (TONELLI; FREIRE, 2000).

O paciente então expira em um balão ou outro recipiente próprio onde a presença do carbono marcado pode ser detectada por cintilação ou espectrografia. O ¹⁴C não pode ser usado em menores de 18 anos nem em mulheres grávidas, por ser radioativo. O ¹³C, não-radioativo é o teste ideal para o diagnóstico da infecção em pediatria. É um teste com

mais de 90% de sensibilidade e altamente específico. Pode ser usado em estudos epidemiológicos e é o teste de preferência para o controle da erradicação da infecção, por não ser invasivo (GODOY; RIBEIRO, 2004).

TRATAMENTO

Ainda não existe um esquema terapêutico ideal. São vários os antimicrobianos já usados na infecção pelo *H. pylori*, em várias associações e com tempos diversos de tratamento. Parece necessário, para o sucesso terapêutico, a inclusão de uma droga com secreção salivar e/ou gástrica (metronidazol e claritromicina) associada a drogas de ação luminal (bismuto, amoxicilina, tetraciclina, furazolidona). O percentual de cepas resistentes ao metronidazol e/ou claritromicina determinará a eficácia do tratamento (GONZAGA *et al.*, 2000).

Como a sensibilidade microbiana varia com a localidade, raça e uso prévio desses medicamentos, a eficácia de um esquema de tratamento em uma comunidade não permite a generalização dos resultados (GRAHAM, 1998). O ideal seria basear o tratamento em estudos de sensibilidade ou, pelo menos, no conhecimento prévio do índice de resistência microbiana na comunidade, o que no momento é impossível, na maioria dos centros brasileiros (HAN *et al.*, 1999).

Terapia com uma única droga antimicrobiana é habitualmente um insucesso, os esquemas antimicrobianos duplos inicialmente testados em pediatria tinham a duração mínima de quatro semanas e incluíam a associação de bismuto com amoxicilina (ou ampicilina) ou amoxicilina com tinidazol (KIM *et al.*, 2003). No meio hospitalar, onde há considerável percentual de cepas resistentes a imidazólicos, é provável que um esquema duplo que incluísse essas drogas, não proporcionasse boa eficácia. Desde 1989, tem-se utilizado uma associação de amoxicilina (50 mg/kg/dia), metronidazol (20 a 30 mg/kg/dia) e furazolidona (6 a 8 mg/kg/dia), em três doses diárias, por sete dias, com erradicação de 84% (LIND, 1999). Entretanto, o percentual de efeitos colaterais é significativo, mas na maioria dos pacientes não impede a continuidade da terapia (HARRIS; MISIEWICZ, 2001). Atualmente, vem sendo utilizado a associação de um inibidor da bomba protônica (omeprazol 20 mg, lansoprazol 30 mg, pantoprazol 40 mg, rabeprazol 20 mg) + amoxicilina 1000 mg + claritromicina 500 mg (SILVA *et al.*, 2004). Nesse sentido, a adição do esquema triplice de agentes anti-atividade secretora com um esquema quádruplo é mais eficaz quando um inibidor da bomba protônica é usado como um agente anti-atividade secretora, inclusive, tendo melhor resposta que um antagonista do receptor H₂ (KATE; ANANTHAKRISHNAN, 2001). Contudo, como a sensibilidade microbiana varia com a localidade, raça e uso prévio desses medicamentos, a eficácia de um esquema de tratamento em uma comunidade não permite a generalização dos resultados (GRAHAM, 1998).

É importante frisar que o sucesso da erradicação de *H. pylori* não depende apenas da susceptibilidade da linhagem ao antimicrobiano utilizado na terapia, mas este é um dos principais fatores, tendo assim maiores taxas de cura em pacientes infectados com linhagens sensíveis ao tratamento (LANG, 2002). Alguns estudos têm sugerido que a taxa de erradicação deste microrganismo é menor em pacientes com gastrite, comparando-se à pacientes com úlcera. Desse modo, os fatores de virulência poderiam influenciar na falência terapêutica (KIM *et al.*, 2003).

COMENTÁRIOS FINAIS

Desde a introdução da *Helicobacter pylori* a comunidade científica por Marshall e Warren, a mais de duas décadas atrás, esse patógeno tem sido um importante foco em pesquisas básicas na área bioquímica e da clínica. Apesar das inúmeras descobertas na última década acerca das infecções causadas pelo *H. pylori* muitos paradigmas sobre o diagnóstico e o ideal protocolo de tratamento continuam obscuros.

Os critérios histopatológicos são extremamente importantes para definir e dar suporte ao diagnóstico e prognóstico. Nesse sentido, os avanços na área molecular abrem a possibilidade de utilização de marcadores genéticos que, somados aos dados histopatológicos e imunohistoquímicos podem levar a diagnósticos e prognósticos mais seguros.

Trabalhos recentes têm se preocupado em traçar um mapa do genoma dessa bactéria visando a produção de vacinas seletivas e de grande espectro em sua eficácia. Por outro lado, algumas cepas do *H. pylori* têm se mostrado resistentes aos tratamentos tradicionais tanto nos esquemas tripliques quanto quádruplos, o que é de relevante importância em pacientes imunossuprimidos, pacientes HIV positivo e câncer gástrico em estágio patológico avançado.

Na verdade, uma melhor compreensão dos aspectos gerais das infecções por *H. pylori* continua sendo o melhor alicerce na construção de um diagnóstico preciso e de tratamentos clínicos eficientes.

REFERÊNCIAS

- ARRUDA SMB, JUCÁ NT, OLIVEIRA EP, MACEDO FM, ALBUQUERQUE MC, PEREIRA MG. Perfil do câncer gástrico no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. GED Gastroenterol Endosc Dig. 16: 14-18, 1997.
- ARTHERTON JC. The clinical relevance of strain types of *Helicobacter pylori*. Gut. 40: 701-3, 1997.
- BEDOYA A, GARAY J, SANZON F, et al. Histopathology of gastritis in *Helicobacter pylori* infected children from populations at high and low gastric cancer risk. Hum Pathol. 34: 206-13, 2003.
- BLEECKER U, LANCERS S, KEPPENS E, VANDENPLAS Y. Evolution of *Helicobacter pylori* positivity in infants born from positive mothers. J Pediatric Gastroenterol Nutr. 19: 87-90, 1994.
- BROWN LM. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. Epidemiol Rev. 22: 283-97, 2000.
- BUJANOVER, Y. et al. *Helicobacter pylori* e doença péptica no paciente pediátrico. Clin. Ped. Am. Norte. 7: 215-35, 1997.
- CENSINI S, LANGE C, XIANGZY et al. CagA pathogenicity island of *Helicobacter pylori* encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. Proc Natl Acad Sci USA. 93: 14,648-53, 1996.
- CHU KM, POON R, TUEN HH, LAW SYK, BRANICKI FJ, WONG J. A prospective comparison of locally made rapid urease test and histology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Gastrointest Endosc. 46: 503, 1997.
- CORREIA, P. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: state of the art. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 5, 477-481, 1996.
- CUTLER AF, PRASAD VM, SANTOGADE P. Four-year trends in *Helicobacter pylori* IgG serology following successful eradication. Am J Med. 105: 18-20, 1998.
- ESLICK, G. Sexual transmission of *Helicobacter pylori* via oral-anal intercourse. Int. J. Std. Aids. 13: 7-11, 2001.
- FELDMAN RA, EVANS SJW. Accuracy of diagnostic methods used for epidemiological studies of *Helicobacter pylori*. Aliment Pharmacol Ther. 9:21, 1995.
- GLYNN MK, FRIEDMAN CR, GOLD BD, et al. Seroincidence of *Helicobacter pylori* infection in a cohort of rural Bolivian children: acquisition and analysis of possible risk factors. Clin Infect Dis 35: 1059-65, 2002.
- GRAHAM DY. Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: implication for therapy. Gastroenterology. 115: 1272-7, 1998.
- GOBERT AP, MERSEY BD, CHENG Y, BLUMBERG DR, NEWTON JC, WILSON KT. Cutting edge: urease release by *Helicobacter pylori* stimulates macrophage inducible nitric oxide synthase. J Immunol. 168: 6002-6, 2002.
- GODOY, A.P.O.; RIBEIRO, M.L. Disponível em <http://www.helicobacter.com.br>. Acesso em 20/junho/2004.
- GONZAGA VAZ COELHO L, LEÓN-BARÚA R, QUIGLEY EMM and representatives of the Latin-American National Gastroenterological Societies affiliated with the Inter-American Association of Gastroenterology (AI-GE). Latin-American Consensus Conference on *Helicobacter pylori* infection. Am J Gastroenterol. 95: 2688-2691, 2000.
- HAN SR, BHAKDI S, MAEURER MJ, SCHNEIDER T, GEHRING S. Stable and unstable amoxicillin resistance in *Helicobacter pylori*: should antibiotic resistance testing be performed prior to eradication therapy? J Clin Microbiol. 37: 2740-2741, 1999.
- HANSSON, L. E. et al. *Helicobacter pylori* infection: independent risk indicator of

- gastric adenocarcinoma. Gastroenterology. 105: 1098-1103, 1993.
- HARRIS A, MISIEWICZ JJ. Management of *Helicobacter pylori* infection. Brit Med J. 323:1047-1049, 2001.
- HUNT RH, MALFERTHEINER P, YEOMANS ND et al. Critical issues in the pathophysiology and management of peptic ulcer disease. Eur J Gastroenterol Hepatol. 7: 685-99, 1995.
- KAPADIA, CR. Host factors in *Helicobacter* infection. Gastroenterology, 113 1:361-2,1997.
- KATE V, ANANTHAKRISHNAN N. Treatment of *helicobacter pylori* infection- a review. Indian Journal of Pharmacology. 33: 410-416, 2001.
- KHANNA B, CUTLER A, ISRAEL NE, PERRY M, LASTOVICA A, FIELDS PI, GOLD BD. Use caution with serologic testing for *Helicobacter pylori* infection in children. J Infect Dis. 178: 460-5, 1998.
- KIM JJ, KIM JG, KWON DH. Mixed-infection of antibiotic susceptible and resistant *Helicobacter pylori* isolated in a single patient and underestimation of antimicrobial susceptibility testing. Helicobacter 8: 202-6, 2003.
- KODAIRA MS, ESCOBAR SMU, GRISI S. Aspectos epidemiológicos do *Helicobacter pylori* na infância e adolescência. Revista Saúde Pública. 36(3):356-69, 2002.
- LEHOURS P, RUSKONE-FOURMESTRAUX A, LAVERGNE A, CANTET A, MÉGRAUD F. Which test to use to detect *Helicobacter pylori* infection in patients with low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma? Am J Gastroenterol. 98: 291-5, 2003.
- LEVINSON WE, JAWETZ E. Pathogenesis. In: Levinson WE, Jawetz E, editors. Medical microbiology and immunology. 3. ed. East Norwalk: Appleton & Lange; p. 23-33, 1994.
- LIND T, MÉGRAUD F, UNGE P, BAYERDÖRFFER E, O'MORAIN C, SPILLER R et al. The MACH 2 study: role of omeprazole in eradication of *Helicobacter pylori* with 1-week triple therapies. Gastroenterology. 116: 248-253, 1999.
- MAHDAVI J, SONDEN B, HURTIG M, et al. *Helico-bacter pylori* SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. Science 297:573-8, 2002.
- MALFERTHEINER P, MÉGRAUD F, O'MORAIN C, et al. and the European *Helicobacter pylori* Study Group (EHPG). Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection - the Maastricht 2-2000 consensus report. Aliment Pharmacol Ther. 16: 167-80, 2002.
- MARSHALL BJ, WARREN JR. unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis [Letter]. Lancet 1:1273-5, 1983.
- MARSCHALL, B.J. *Helicobacter pylori* in the year 2000. *Helicobacter pylori* Foundation, 50: 1-9, 2000.
- MCCALLION WA, ARDILL JES, BAMFORD KB, POTTS SR, BOSTON VE. Age dependent hypergastrinaemia in children with *Helicobacter pylori* gastritis - evidence of early acquisition of infection. Gut. 37:35-38, 1995.
- MÉGRAUD F, LEHN N, LIND T, BAYERDÖRFFER E, O'MORAIN C, SPILLER R et al. Antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori* in a large multicenter trial: the MACH 2 study. Antimicrob Agents Chemother. 43:2747-2752, 1999.
- MISIEWICZ JJ. Current insights in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Eur J Gastroenterol Hepatol. 7: 701-3, 1995.
- MITCHELL A, SILVA TM, BARRETT LJ, LIMA AA, GUERRANT RL. Age-specific *Helicobacter pylori* seropositivity rates of children in an impoverished urban area of northeast Brazil. Clin Microbiol. 4: 1326-8, 2003.
- NEWNHAM A, QUINN MJ, BABB P, KANG JY, MAJEED A. Trends in the subsidence and morphology of esophageal and gastric cancer in England and Wales 1971-98. Aliment Pharmacol Ther. 17:665-76, 2003.
- NG FH, WONG SY, NG WF. Storage temperature of the unbuffered rapid urease test. Am J Gastroenterol. 92: 2230, 1997.
- OPLUSTIL CP, ZOCCOLI CM, TOBOUTI NR, SINTO SI. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica. São Paulo: Sarvier, 136p., 2001.
- ORNELLAS LC, CURY M DE S, LIMA VM DE, FERRARI JR AP. Avaliação do teste rápido da urease conservado em geladeira. Arq Gastroenterol. 37:155-157, 2000.
- PORTORREAL A, KAWAKAMI E. Avaliação do método imunoenzimático (ELISA) para diagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori* em crianças e adolescentes. Arq Gastroenterol. 39: 198-203, 2002.
- ROCHA, AFG. *Helicobacter pylori* - Diagnóstico pelo teste Respiratório. A C. Gastroenterol. 12:4-13, 1996.
- ROMA-GIANNIKOU E, KARAMERIS A, BALATSOS B, ET AL. Intrafamiliar spread of *Helicobacter pylori*: a genetic analysis. Helicobacter 8: 15-20, 2003.
- SHERMAN P, CZINN S, DRUMM B, et al. *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents: Working Group Report of the First World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 35: 128-33, 2002.
- SILVA LBL, GONÇALVES TM, ALENCAR JS, NUNES OS, VASCONCELLOS ACA, SANTANA. Atenção farmacêutica a pacientes com gastrite *Helicobacter pylori* positivo. Infarma. 16(7/8): 70-73, 2004.
- TONELLI E, FREIRE LMS. Doenças Infecciosas na Infância e Adolescência. São Paulo: Medsi, 656,657p., 2000.
- VAIRA D, HOLTON J, RICCI C, et al. Review article: *Helicobacter pylori* infection from pathogenesis to treatment--a critical reappraisal. Aliment Pharmacol Ther. 4:105-13, 2002.
- VOLAND P, WEEKS DL, MARCUS EA, PRINZ C, SACHS G, SCOTT D. Interactions among the seven *Helicobacter pylori* proteins encoded by the urease gene cluster. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 284:G96-106, 2003.
- WATANABE, Y. et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. A nested case-control study in a rural area of Japan. Dig. Dis. Sci. 42: 1383-1387, 1997.
- WISNIEWSKI RM, PEURA DA. *Helicobacter pylori*: beyond peptic ulcer disease. Gastroenterologist. 5:295-305, 1997.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Jullyana S. Siqueira.
Av. da Integração, 1252/101
CEP. 56300-000 Petrolina - PE
E-mail: jullyanas@yahoo.com.br
Telefones: (87) 3861-6720/9243-4356/(74)3611-5220

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 67º Concurso para Outorga do TEAC – Título de Especialista em Análises Clínicas, será realizado em 09/06/2007 de 08 às 12h (Prova Escrita/Slide) e 13:30 às 18h (Prova Oral), durante o 34º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas e 7º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica, em BELO HORIZONTE – MG.

A taxa de inscrição para o Concurso do TEAC e TECC é no valor R\$ 198,00 (cada). Para os inscritos no 34º CBAC e 7º CBCC, haverá desconto de 50% nas inscrições.

O prazo de recebimento das fichas de inscrição para o Concurso do TEAC será até o dia 26/05/2007, (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**

Infecções parasitárias: diagnóstico imunológico de enteroparasitoses*

Parasital Infetion: immunologic diagnostic of enteroparasitosis

Marilei Uecker¹, Caroline E. Copetti², Luciana Poleze² & Vanessa Flores²

RESUMO - As enteroparasitoses são causas relevantes de agravos à saúde em países onde as condições sócio-econômicas-culturais permitem a manutenção e disseminação de vários parasitas. O desenvolvimento de métodos de diagnóstico para a parasitologia é de fundamental importância no estabelecimento da etiologia das infecções para correta intervenção terapêutica. O diagnóstico imunológico tem sido muito empregado no laboratório clínico pela simplicidade, rapidez de execução e baixo custo operacional. No entanto, existem dificuldades para a padronização dos testes imunológicos em relação à memória imunológica e à semelhança entre os antígenos constituintes dos parasitos, restringindo seu uso no diagnóstico de algumas patologias. Atualmente, o que se observa, no que diz respeito ao diagnóstico imunológico de parasitoses intestinais, é a dificuldade de padronização destes testes por apresentarem baixa sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade e custos elevados para o isolamento de antígenos e anticorpos. Após a realização desta revisão bibliográfica constatou-se, que dentre todas as técnicas utilizadas na rotina para imunodiagnóstico de parasitoses intestinais, o ELISA destaca-se como método de escolha por apresentar melhor especificidade e sensibilidade.

PALAVRAS-CHAVE - Imunodiagnóstico, enteroparasitoses.

SUMMARY - The enteroparasitosis are considerable causes of damage to the health in countries where the socio-economical-cultural conditions allow the maintenance and dissemination of several parasites. The development of diagnostic methods to the parasitology is important to establish the infection's etiology to the correct therapeutic intervention. The immunological diagnostic has been very engaged by simplicity, quickness of execution and cheap operational cost. However, there are difficulties to the standardization of the immunologic tests in relation to the immunologic memory and the resemblance among the parasites constituent antigens. Nowadays, what is observed in respect to the immunologic diagnostic of intestinal parasitosis is the difficulty of standardization of those tests for presenting slow sensibility, specificity, reproductivity and high cost to the isolation of antigens and antibodies. Before the realization this bibliographic revision, it verified from among all the technics used in the routine to immunodiagnostic of intestinal parasitosis ELISA, distinguishes as method of choice by presenting better specificity and sensibility.

KEYWORDS - Immunodiagnostic, enteroparasitosis.

INTRODUÇÃO

As parasitoses são causas relevantes de agravo à saúde. Em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, onde condições sócio-econômicas-culturais permitem a manutenção e disseminação de ciclos biológicos de vários parasitas. Os parasitas intestinais são um dos principais fatores debilitantes da população, associando-se frequentemente a quadros de diarreia crônica e desnutrição, comprometendo o desenvolvimento físico e intelectual, particularmente das faixas etárias mais jovens da população (LUDWING, 2005; VAZ, 2001).

Em decorrência dos efeitos deletérios à saúde dos indivíduos e, sobretudo, das repercussões econômicas, vários programas têm sido dirigidos para o controle das parasitoses intestinais em diferentes países, mas, infelizmente, constata-se um descompasso entre o êxito alcançado nos países mais desenvolvidos e aquele verificado nas economias mais pobres. Além do custo financeiro das medidas técnicas, a falta de projetos educativos com a participação da comunidade dificultam a implementação das ações de controle (LUDWING, 2005).

A parasitologia é uma importante área de estudo, destacando-se no desenvolvimento de métodos diagnósticos que possam contribuir para estabelecer adequadamente a etiologia da infecção para a correta intervenção terapêutica; avaliar a frequência de determinadas parasitoses em diferentes áreas, auxiliando no direcionamento de medidas de intervenção local e avaliar a eficiência de medidas profiláticas e terapêuticas ao longo do tempo (DE CARLI *et al*, 1997; VAZ, 2001).

O diagnóstico de certeza de um processo parasitológico é dado pela demonstração da presença do parasito ou de seus produtos no organismo do hospedeiro. Entretanto, nem sempre é possível ou fácil de comprovar a existência do parasitismo (REY, 2001).

Segundo Rey, 2001, os métodos imunológicos diretos e indiretos têm sido muito empregados, para detectar antígenos, anticorpos ou imunocomplexos relacionados com a existência da infecção parasitária. Esses métodos se caracterizam pela simplicidade e rapidez de execução, possibilidade de automação e baixo custo operacional. Podem ser aplicados em pacientes para o diagnóstico diferencial entre as doenças com quadros clínicos semelhantes que possam estar sendo causa do processo patológico, bem como nos inquéritos epidemiológicos.

A pesquisa de anticorpos em uma população, ou em amostras representativas, tem sido utilizada com frequência para determinar a prevalência de uma parasitose. No entanto, os testes imunológicos devem ser devidamente interpretados para se evitarem falhas e falsos resultados que podem decorrer da variação antigênica do patógeno ou da resposta imune do hospedeiro (REY, 2001).

Na etapa de padronização dos testes imunológicos são utilizadas amostras de referência, positivas e negativas, para a doença em questão. Portanto, a adequada escolha dessas amostras é importante para a definição da referência padrão ouro (*gold standard*) (VAZ, 2001).

Existem duas características que parecem dificultar a padronização dos testes imunológicos. A primeira é a memória imunológica, pois são detectados anticorpos em pacientes com a doença, naqueles que já estão curados da in-

Recebido em 18/01/2006

Aprovado em 28/09/2006

*Componente curricular Análises Parasitológicas. Curso de Farmácia Habilitação Bioquímico em Análises Clínicas-UNIJUI.

¹Farmacêutica. Mestre em Ciências Farmacêuticas. Docente do DCSa-UNIJUI – RS. Autora responsável (marilei@unijui.tche.br)

²Farmacêuticas. Acadêmicas do Curso de Farmácia Habilitação Bioquímico em Análises Clínicas-UNIJUI-RS.

fecção, bem como naqueles que tiveram contato com o parasito mas não foram infectados e nos vacinados. A segunda característica adversa na padronização dos testes imunológicos diz respeito à freqüente semelhança entre os antígenos constituintes dos parasitos. Ainda, permanece como área de interesse o desenvolvimento de testes rápidos e a utilização de amostras biológicas de fácil obtenção, como saliva ou sangue total de punção de polpa digital em papel filtro ou outras formas com fácil obtenção do material biológico (VAZ, 2001).

O presente trabalho tem como objetivo fazer uma revisão bibliográfica em material impresso e em sites de busca da internet como scielo e birene sobre o diagnóstico imunológico das parasitoses intestinais, a fim de se verificar a possibilidade de aplicação desses métodos na clínica. A seguir são descritas as principais parasitoses intestinais e suas particularidades encontradas quanto ao diagnóstico utilizando testes imunológicos.

DIAGNÓSTICO IMUNOLÓGICO

Criptosporidiose

A criptosporidiose é causada por protozoários de gênero *Cryptosporidium* e a doença se caracteriza por diarreia aguda no homem e em outros animais. A transmissão do parasito ocorre por via fecal-oral, com ingestão de alimentos e água contaminada com fezes de humanos ou animais infectados (REY, 2001; GOMES, 2004; DE CARLI, 1997).

O diagnóstico imunológico pode ser feito utilizando técnicas como ELISA que detecta coproantígenos nas fezes e pela reação de imunofluorescência direta (IFD) que emprega anticorpos monoclonais *anti-cryptosporidium* marcados com isotiocianato de fluoresceína. Estes testes, quando avaliados, demonstram alta sensibilidade, possível de uso para processamento de grande quantidade de amostra, além de servir para estudos epidemiológicos (GOMES, 2004; LIMA, 2001).

Braz *et al* (1996), utilizando a técnica de imunofluorescência indireta, encontrou imunoglobulinas G e M, no soro humano, contra o *Cryptosporidium*. Demonstrando, assim, a utilidade deste teste, associado a outras técnicas parasitológicas, em estudos populacionais retrospectivos ou diagnósticos na infecção aguda.

A PCR (Reação da Polimerase em Cadeia) é uma técnica de biologia molecular para detectar *Cryptosporidium* em amostras ambientais e fecais. Esta técnica tem a vantagem de permitir a caracterização genotípica das espécies de *Cryptosporidium* responsáveis por surtos e agravos, fornecendo subsídios para investigação de prováveis fontes e via de transmissão, por outro lado, o custo é elevado (GOMES, 2004).

Ancilostomíase

Ancilostomíase é o nome da doença causada por algumas espécies de nematóide da família *Ancylostoma* ou, mais especificamente, por *Necator americanus*, por *Ancylostoma duodenales* e por *Ancylostoma ceylanecium*. A via de transmissão é oral e cutânea, sendo que o parasitismo costuma muitas vezes ser assintomático. Pode causar prurido intenso, crises alérgicas e anemia em pacientes sujeitos a infecções intensas, especialmente quando há certo grau de deficiência alimentar (CIMERMAN, 2002; LEITE, REY, 2001).

Vários testes imunológicos e sorológicos (precipitação, hemaglutinação, fixação do complemento, difusão em gel, floculação de látex, imunofluorescência, ELISA) evidenci-

am reações mediadas por antígenos dos vermes, mas não têm sido utilizados na prática. A intradermoreação pode ser útil em campanhas profiláticas, mas possui o grande inconveniente de dar resultados falso-positivos em indivíduos tratados (LEITE, 2001).

Estrongiloidíase

O nematódeo do gênero *Strongyloides* apresenta 52 espécies, mas somente duas foram descritas como infectantes do homem: *S. stercoralis* e *S. fuelleborni*. Os casos de infecção leve são assintomáticos, os demais produzem quadro de enterite ou de enterocolite crônica, que pode chegar a ser grave ou fatal em indivíduos imunocomprometidos. A via de penetração é a cutânea, podendo ocorrer infecção também pela via digestiva (COSTA-CRUZ, 2002; REY, 2001).

Os métodos imunológicos proporcionam boas indicações para o diagnóstico desta parasitose, pois o parasita dificilmente é detectado nas fezes de indivíduos que apresentam baixa intensidade de infecção. Destaca-se, também, o emprego em inquéritos soropidemiológicos por apresentar elevada sensibilidade com relação aos métodos parasitológicos. Os testes imunológicos são usados para a detecção de antígenos e, na maioria das vezes, anticorpos presentes no soro ou fluidos biológicos (CIMERMAN, 2002; COSTA-CRUZ, 2002; REY, 2001).

Madalena *et al* (2003) constatou em estudos realizados que extrato heterólogo de *S. rattii* é uma ferramenta útil para a detecção de IgE gênero-específica por ELISA, contribuindo para uma melhor caracterização do perfil da resposta imune na estrongiloidíase humana.

Segundo Costa-Cruz (2002), a maior limitação encontrada na padronização dos testes é a dificuldade de se obter quantidades suficientes de larvas filarióides de *S. stercoralis*, situação vencida pelo emprego de *S. rattii*, *S. venezuelensis* ou *S. cebus* como fonte alternativas de antígenos heterólogos. Outra limitação é a reação cruzada com outros parasitos, principalmente a esquistossomose, filariose, ascariíase e ancilostomídeos.

A intradermoreação foi a reação pioneira, mas não é utilizada na rotina diagnóstica. Várias técnicas têm sido descritas, incluindo a aglutinação indireta em partículas de gelatina, hemaglutinação indireta, radioimunoensaio, radioimunoabsorção, reação de imunofluorescência direta, imuno-histoquímica; mas, sem dúvida, os testes imunoenzimáticos ELISA, o teste de Western blotting e a imunofluorescência indireta têm provado serem testes eficazes como complementares para o diagnóstico e monitoramento da resposta imune do paciente (REY, 2001; CIMERMAN, 2005; COSTA-CRUZ, 2002).

Esquistossomose

A esquistossomose é doença causada por vermes do gênero *Schistosoma*, sendo o *S. mansoni*, o *S. haematobium* e o *S. japonicum* as espécies de interesse médico. O *S. mansoni* causa a esquistossomose mansônica ou intestinal e pode ser encontrado na América do Sul e Antilhas. O *S. japonicum* também é causador de doença intestinal, podendo ser encontrado em países como a Indonésia, China e Filipinas. Esses parasitos podem provocar inflamação no trato intestinal, bem como hemorragias (REY, 1992; CIMERMAN, 2002).

O diagnóstico da esquistossomose é realizado comumente através do exame parasitológico de fezes, por ser sensível e de fácil execução. O diagnóstico imunológico pode ser realizado utilizando o soro do paciente para pesquisa de anticorpos contra o *S. mansoni*. Para isto, podem ser reali-

zadas as técnicas de fixação de complemento, hemaglutinação indireta e aglutinação do látex, entre outras. Porém, nos últimos anos, as técnicas mais utilizadas são ELISA, reação periovular e imunofluorescência. A busca de antígenos tem sido realizada com sucesso, mas a metodologia ainda é bastante complicada e nem sempre apresenta resultados repetitivos (CIMERMAN, 2002).

Estudos realizados por Kamura *et al* (1998) confirmam a superioridade da imunofluorescência para detecção de anticorpos IgM em relação ao exame parasitológico de Kato-Katz, principalmente em áreas de baixa endemicidade.

Diferentes alternativas de diagnóstico para esquistossomose também foram propostas por Araújo *et al* (1997), utilizando preparações antigênicas solúveis de *Schistosoma mansoni* adulto fixadas covalentemente em discos de polivinil álcool-glutaraldeído, em teste de ELISA. Estabelecendo uma comparação entre este procedimento e o de ELISA convencional, demonstrou-se ser o primeiro um método seguro de imobilização do antígeno, com reagentes de baixos preços, o que compensa o emprego desta técnica.

Giardíase

A giardíase é uma infecção causada por um parasito denominado *Giardia lamblia*, sendo mais comum em crianças. A patologia geralmente apresenta quadro assintomático e, quando sintomática, caracteriza-se por diarreias com cólicas intestinais e má-absorção (REY, 1992; CIMERMAN, 2002).

A forma clássica de diagnóstico da giardíase é o exame parasitológico de fezes, com pesquisa de trofozoítos em fezes líquidas e cistos em fezes pastosas (CIMERMAN, 2002; MACHADO *et al*, 2001). Como a eliminação de cistos nas fezes não é contínua, o diagnóstico imunológico representa grande importância na detecção da giardíase. Testes como ELISA e imunofluorescência indireta mostram alta sensibilidade e especificidade, porém, devido ao alto custo, não tem sido muito utilizados no Brasil.

Vários estudos demonstram a eficiência das provas sorológicas para pesquisa de *Giardia lamblia*. Em 2003, Souza *et al* pesquisaram o desempenho da técnica de imunoseparação magnética acoplada à imunofluorescência, em relação ao método de Faust e de Lutz, comprovando maior sensibilidade da primeira em relação às outras. A imunoseparação magnética acoplada à imunofluorescência apresenta como vantagem proporcionar o processamento de várias amostras simultaneamente, além de aumentar a recuperação de cistos de *G. lamblia* e reduzir o tempo de estocagem das amostras.

Rocha *et al* (1999) realizou pela primeira vez no Brasil uma avaliação do ensaio em microplaca ProSpecT *Giardia* (Alexon, Inc., BIOBRÁS), mostrando ser esta técnica uma boa alternativa para o diagnóstico da giardíase, especialmente em casos onde o EPF foi repetidamente negativo e o paciente apresenta sintomas compatíveis com a doença.

Guimarães e Sogayar (2002) realizaram análises comparativas entre as técnicas de imunofluorescência indireta e a reação imunoenzimática (ELISA) para pesquisa de IgG anti-*giardia*, comprovando ter a imunofluorescência indireta maior concordância com o resultado do EPF.

Em 2002, Machado *et al* relataram a comparação de quatro métodos laboratoriais para diagnóstico da giardíase em crianças. Os métodos pesquisados foram: o método direto com coloração por lugol, a técnica de hematoxilina férrica, o método de concentração de Faust e colaboradores e a pesquisa de coproantígeno (em microplaca ProSpecT *Giardia*®). Como resultado, a hematoxilina e o método direto

apresentaram menor positividade, enquanto que o método de Faust e colaboradores continua uma boa escolha para diagnóstico. Já, o ensaio imunoenzimático demonstrou melhora na qualidade da detecção deste parasito.

Amebíase

A amebíase, doença causada pelo protozoário *Entamoeba histolytica*, é considerada importante causa de morbimortalidade no homem. A transmissão se dá por meio da ingestão de alimentos e água contaminada, podendo ocorrer ainda transmissão de pessoa a pessoa em hospitais, asilos e presídios. Cerca de 90% dos indivíduos são assintomáticos e, quando sintomáticos, aparecem manifestações decorrentes da invasão da mucosa intestinal pelo parasito (AQUINO, 2001; SILVA *et al*, 2005).

O emprego do imunodiagnóstico e da biologia molecular têm mostrado boa sensibilidade e especificidade para a detecção da amebíase, sendo possível distinguir *E. histolytica* de *E. dispar*. Devido ao alto custo, ainda não estão disponíveis para uso regular no diagnóstico, porém tem auxiliado em estudos epidemiológicos que resultam no conhecimento da prevalência da amebíase no mundo (GOMES, 2002; SILVA *et al*, 2005).

A imunofluorescência indireta (IFI) é um método com boa sensibilidade e especificidade, porém os títulos são baixos em todas as fases da amebíase ulcerada (AQUINO, 2001). Em estudos realizados por Póvoa *et al* (2000), a IFI apresentou baixa soropositividade, se comparado com o teste de ELISA, fato que pode ser decorrente do parasito permanecer no lúmen intestinal e, assim, não dar estímulo à resposta humoral. Portanto, este método apresenta limitações no diagnóstico da amebíase intestinal.

Silva *et al* (2005) realizaram estudos em pacientes residentes na cidade de Belém, Pará, Brasil para a pesquisa de antígenos de *E. histolytica* em amostras fecais, utilizando enzima-imunoensaio disponível comercialmente e métodos parasitológicos (direto, Hoffman e Faust *et al*.). Detectou-se discordância nos resultados dos métodos de ELISA e coproscópico, com maior número de positivos no teste imunoenzimático.

Desta forma, o teste ELISA tem se mostrado eficaz no diagnóstico da amebíase, sendo os resultados de detecção de coproantígenos comparados aos das técnicas imunoenzimáticas e de biologia molecular, considerados padrão ouro para o diagnóstico da infecção. Além disso, é de fácil execução, possui sensibilidade de 86% e especificidade de 98% quando comparados à cultura. Recomenda-se, assim, a sua inclusão como método de diagnóstico nos casos suspeitos de amebíase intestinal, embora o seu custo ainda possa constituir fator limitante para o uso em larga escala (SILVA *et al*, 2005; PÓVOA *et al*, 2001).

Teníase/Neurocisticercose

A neurocisticercose é causada pela presença da larva *T. solium* ou *C. cellulosae* no Sistema Nervoso Central. Geralmente, o diagnóstico desta doença tem sido feito através de técnicas de imagem, podendo fornecer resultados falsos-negativos, pois a estrutura que aparece é somente sugestiva a do parasita. O diagnóstico da neurocisticercose definitivo deve ser feito pela associação de técnicas de imagem com métodos imunológicos (MACEDO *et al*, 2002; PIALARISSI *et al*, 1994).

Os testes imunológicos para detecção de neurocisticercose devem apresentar alta sensibilidade e especificidade, des-

tacando também a importância de avaliar a quebra da barreira hematoencefálica e a produção intratecal de imunoglobulinas (MACEDO *et al*, 2002).

Atualmente, o método mais utilizado para detecção de anticorpos para a *C. cellulosae* é o imunoenzimático (ELISA), tanto no soro como no LCR. Além desse método, utiliza-se também para diagnóstico da neurocisticercose humana e suína o Western Blot. Entre os diferentes antígenos testados, os ricos em proteínas, obtidos a partir de *C. cellulose*, é que tem demonstrado maior sensibilidade (PIALARISSI *et al*, 1994). Segundo estudo realizado por Pialarassi *et al* (1994), utilizando extrato salino bruto de cisticercos, fixados em hemácias sensibilizadas (teste EIAC) demonstrou ser eficiente e de baixo custo para a rotina, principalmente em laboratórios de saúde pública.

O Dot-Elisa, também é um teste simples e rápido para detectar anticorpos de cisticercos no soro. Conforme Biwas *et al* (2004), em estudo realizado recentemente, utilizando antígeno homogeneizado completo de cistos de *Cysticercus cellulosae*, obtidos de porcos infectados e marcados sobre a membrana de nitrocelulose, constatou que o Dot – Elisa detectou anticorpos em 14 de 25 (56%) casos suspeitos de neurocisticercose, em 13 de 23 (56,5%) em casos provável de neurocisticercose e em 2 de 25 (8%) cada, em controles de infecções do sistema nervoso não devidas à cisticercose e controles saudáveis. O teste demonstrou sensibilidade de 56,25% e especificidade de 92%.

Em outro estudo, realizado por Macedo *et al* (2002), demonstrou-se que os métodos imunológicos no LCR são importantes para a definição da neurocisticercose. Entretanto, o método de ELISA no soro ainda não é adequado pela sua baixa sensibilidade, mas o Western Blot apresentou alta especificidade e boa sensibilidade, podendo auxiliar no diagnóstico da neurocisticercose, possibilitando sugerir a existência de forma transacional da doença, não demonstrada pela tomografia computadorizada.

Outro teste a ser realizado na rotina clínica é a aglutinação em lâmina, utilizando partículas de látex, para a detecção de anticorpos anti-cisticercos, em amostras de LCR. Segundo estudo realizado por Rocha *et al* (2002), que pesquisou anticorpos contra *Taenia solium* no LCR, utilizando partículas de látex revestidas com extrato bruto do parasito, demonstrou que este teste apresenta uma sensibilidade e especificidade de 89,5% e 75%, respectivamente. Sendo assim, o teste de aglutinação para cisticercose demonstra ser rápido e barato, tornando-se um meio promissor para o imunodiagnóstico da neurocisticercose.

DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, o que se observa, no que diz respeito ao diagnóstico imunológico de parasitoses intestinais, é a dificuldade de padronização desses testes, por apresentarem baixas sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade, bem como, custos elevados para o isolamento de antígenos e anticorpos a serem utilizados nestas técnicas.

Um dos motivos que é apresentado como justificativa para a falta de incentivo em novas pesquisas e estudos em imu-

TABELA I
Principais parasitoses e técnicas para o seu diagnóstico imunológico

Parasitoses	Técnicas para o diagnóstico imunológico
Criptosporidiose	PCR, imunofluorescência direta e indireta, ELISA
Ancilostomíase	Imunofluorescência, ELISA, precipitação, hemaglutinação, fixação do complemento, difusão em gel, floculação do látex
Estrongiloidíase	Intradermoreação, ELISA, aglutinação indireta em partículas de gelatina, hemaglutinação indireta, radioimunoensaio, radioimunoabsorção, imunofluorescência direta e indireta, imuno-histoquímica e Western Blot
Esquistossomose	Fixação do complemento, hemaglutinação indireta, aglutinação do látex, ELISA, reação periovular e imunofluorescência
Giardiase	Imunofluorescência indireta, ELISA, imunoseparação magnética acoplada à imunofluorescência, ensaio em microplaca,
Amebíase	Imunofluorescência indireta, ELISA
Neurocisticercose	ELISA, Western Blot, aglutinação do látex, Dot-ELISA

nodiagnóstico de enteroparasitoses é a sintomatologia específica que estas patologias apresentam. Sendo assim, observa-se que, geralmente, os médicos utilizam o empirismo no estabelecimento do tratamento para estas doenças.

De acordo com o objetivo deste estudo, a tabela 1 apresenta uma síntese das principais parasitoses e seus respectivos diagnósticos imunológicos já padronizados ou em estudo.

Após a realização desta revisão bibliográfica, verificou-se a necessidade do desenvolvimento de novas metodologias para o diagnóstico imunológico de parasitoses intestinais que ofereçam bons parâmetros de sensibilidade, especificidade, baixo custo, rapidez e reprodutibilidade. Verifica-se, também, que dentre todas as técnicas utilizadas na rotina para imunodiagnóstico de parasitoses intestinais, o ELISA destaca-se como método de escolha, por apresentar melhor especificidade e sensibilidade, quando comparado a outras metodologias.

Espera-se a realização de estudos futuros que possibilitem a padronização de novas técnicas, com custos reduzidos, facilitando sua execução, principalmente em relação ao diagnóstico da neurocisticercose, por apresentar limitações, ter uma alta prevalência na região sul, devida à colonização européia e ser uma patologia que pode acarretar sérios agravos à saúde do paciente acometido.

REFERÊNCIAS

1. AQUINO, L. J. Amebíase. In: FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 232- 240.
2. ARAUJO, A. M.; BARBOSA, G. H. T. S.; DINIZ, J. R. P. et al. Polyvinyl alcohol-glutaraldehyde as solid-phase in Elisa for Schistosomiasis. Revista Brasileira de Medicina Tropical. v. 39. n. 3. Maio/Jun. 1997. p.155-158. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-

- 46651997000300006&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 25 de novembro de 2005.
3. BRAZ, L. M. A. et al. Anticorpos específicos para a criptosporidiose humana detectados mediante imunofluorescência indireta. *Revista de Saúde Pública*. v. 30. n.5. outubro. 1996. p. 395-402. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0034-89101996000500001&lng=pt&nrm=iso&tng=pt>. Acesso em: 27 de outubro de 2005.
 4. BIWAS, R.; PARIJA, S. C.; NARAYAN, S. K. Dot-Elisa no diagnóstico da neurocisticercose. *Revista Brasileira de Medicina Tropical*. v. 46. n. 5. set./out. 2004. p. 249-252. ISSN 0036-4665.
 5. CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. *Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais*. 2 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002.
 6. COSTA-CRUZ, J. M. *Strongyloides stercoralis*. In: NEVES, D. P. et al. *Parasitologia Humana*. 10 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002. p. 247-256.
 7. DE CARLI, G. A.; SARAIVA, P. J.; ISSLER, R. M. S. Infecções parasitárias e o hospedeiro imunocomprometido: diagnóstico laboratorial das enteroparasitoses. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. v. 29. n. 1. p. 24-28, 1997.
 8. GOMES, A. H. de S. et al. Detecção de *Cryptosporidium* em amostras fecais por técnica de Nested – PCR e comparação com métodos imunológicos e parasitológicos. *Revista Instituto Adolfo Lutz*. v.2. n. 63. p. 255-260, 2004.
 9. GOMES, M.A. et al. Amebíase : *Entamoeba histolytica/ Entamoeba dispar*. In : NEVES, D. P. et al. *Parasitologia Humana*. 10 ed. São Paulo : Editora Atheneu, 2002.
 10. GUIMARAES, S.; SOGAYAR, M. I. L. Detecção de anticorpos séricos anti-*Giardia lamblia* em crianças de creches. *Revista de Saúde Pública*. v. 36. n. 1. Fevereiro. 2002. p. 63-68. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102002000100010&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 25 de novembro de 2005.
 11. KANAMURA, H. Y.; DIAS, L. C. S.; GLASSER, C. M. et al. Detection of IgM antibodies to *Schistosoma mansoni* gut-associated antigens for the study of the dynamics of schistosomiasis transmission in an endemic area with low worm burden. *Revista Brasileira de Medicina Tropical*. v. 40. n. 4. Jul./Ago. 1998. p.225-231. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46651998000400004&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 20 de novembro de 2005.
 12. LEITE, A. C. R. *Ancylostomidae*. In: NEVES, D. P. et al. *Parasitologia Humana*. 10 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002. p. 234-242.
 13. LIMA, J. D. *Sarcocystis*, *Isospora* e *Cryptosporidium*. In: NEVES, D. P. et al. *Parasitologia Humana*. 10 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002. p. 157-163.
 14. LUDWING, K. M.; FREI, F.; ALVARES, F. F.; PAES, J. T. R. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo. *Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 32. n.5. Uberaba set/out. 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86821999000500013&lng=pt&nrm=iso&tng=pt>. Acesso em 27 de outubro de 2005.
 15. MACEDO, H. W. et al. Avaliação de testes imunológicos para o diagnóstico da neurocisticercose. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. v. 38. n. 2. Rio de Janeiro, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442002000200005&lng=pt&nrm=iso&tng=pt>. Acesso em 10 de novembro de 2005.
 16. MACHADO, R. L. D., FIGUEREDO, M. C., FRADE, A. F. et al. Comparação de quatro métodos laboratoriais para diagnóstico da *Giardia lamblia* em fezes de crianças residentes em Belém, Pará. *Revista Brasileira de Medicina Tropical*. vol. 34, n. 1 jan./fev. 2001. p.91-93. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822001000100014&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 15 de novembro de 2005.
 17. MADALENA et al. Extrato antigênico heterólogo em ELISA para a detecção de IgE humana anti-*Strongyloides stercoralis*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. v. 45. n. 5. Set./ out.2003. p- 265-268. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0036-46652003000500005&lng=pt&nrm=iso&tng=pt>. Acesso em 27 de novembro de 2005.
 18. PIALARISSI, C. S. M.; NITRINI, S. M. O. O. Utilização de testes de eritroimunoadsorção por captura no imunodiagnóstico da neurocisticercose. *Revista de Saúde Pública*. v. 28. n. 2. São Paulo. Abril. 1994. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-898101994000200004&lng=pt&nrm=iso&tng=pt>. Acesso em 10 de novembro de 2005.
 19. PÓVOA, M. M. et al. Diagnóstico de amebíase intestinal utilizando métodos coproscópicos e imunológicos em amostra da população da área metropolitana de Belém, Pará, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*. v. 16. n. 3. Rio de Janeiro. Jul/set, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2000000300032&lng=pt&nrm=iso&tng=pt>. Acesso em 18 de novembro de 2005.
 20. REY, L.. *Bases da Parasitologia Médica*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1992.
 21. REY, L. *Parasitologia: Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África*. 3. ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2001.
 22. ROCHA, M. O.; MELLO, R. T.; GUIMARAES, T. M. P. D. et al. Avaliação do ProSpET *Giardia* ensaio em microplaca na detecção de coproantígenos de *Giardia lamblia*, em fezes de pacientes de Belo Horizonte, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Tropical*. v. 41. n. 3. Maio. 1999. p.151-154. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46651999000300003&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 18 de novembro de 2005.
 23. ROCHA, S. M.; SUZUKI, L. A.; SILVA, A. D. T. et al. Teste rápido de aglutinação utilizando partículas de látex para a detecção de anticorpos anti-cisticercos em amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR). *Revista Brasileira de Medicina Tropical*. v. 44 n. 1. São Paulo. Jan./fev. 2002. p. 57-58. ISSN 0036-4665.
 24. SILVA, M. C. M. et al. Determinação da infecção por *Entamoeba histolytica* em residentes da área metropolitana de Belém, Pará, Brasil, utilizando ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção de antígenos. *Caderno de Saúde Pública*. v. 21. n.3. Rio de Janeiro. Maio/jun. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2005000300033&lng=pt&nrm=iso&tng=pt>. Acesso em 18 de novembro de 2005.
 25. SOUZA, D. S. M.; BARREIROS, J. T., PAPP, K. M. et al. Comparação entre a imuno-separação magnética, acoplada à imunofluorescência, e as técnicas de Faust et al. e de Lutz para o diagnóstico de cistos de *Giardia lamblia* em fezes humanas. *Revista Brasileira de Medicina Tropical*. v. 45, n. 6 Nov./dez. 2003. p.339-342. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652003000600008&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 18 de novembro de 2005.
 26. VAZ, A. J. Diagnóstico imunológico das parasitoses. In: DE CARLI, A. G. *Parasitologia Clínica: Seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas*. São Paulo. Editora Atheneu, 2001. p. 505-539.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Dra. Marilei Ueker
Rua do Comércio, 3000 - DCSA
CEP. 98700-00 Ijuí - RS
Tel. (55) 3332-0468
E-mail: marileiu@uniui.tche.br

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

Avaliação baciloscópica de pacientes com Hanseníase multibacilar em uma unidade de referência do Município de Fortaleza – Ceará*

Bacilloscopic valuation of patients with multibacillar Hansen's disease at a reference unity of the Fortaleza city of Ceará

Cynthia Duarte Santos¹, Everardo Albuquerque Menezes², Francisco Afrânio Cunha², Creuza Lima Campelo¹, Irismar Silva³ & Delaide Sampaio³

RESUMO - A hanseníase é uma doença infecto-contagiosa causada pelo *Mycobacterium leprae*, bacilo que atinge a pele e nervos e causa sérias incapacidades físicas e sociais, quanto mais tardio for o diagnóstico e tratamento. No Ceará a hanseníase tem uma tendência de expansão. Essa afirmação baseia-se em uma acentuada tendência ascendente nas taxas de detecção da doença. Devido a esta ascensão este trabalho teve como objetivo estudar a hanseníase em uma unidade de referência no Estado do Ceará, no período de 2000 a 2002. Foi realizado nos anos 2000, 2001 e 2002 um estudo retrospectivo, onde foi estudada as baciloscopias coradas pela técnica de Zielh Neelsen realizadas em pacientes com hanseníase, no Centro de Dermatologia Dona Libânia, no Município de Fortaleza. A frequência de positividade de 12,46% no ano de 2000, 11,17% no ano de 2001 e 16,15% no ano de 2002. Os casos novos de hanseníase foram 789 em 2000, 923 em 2001 e 890 em 2002. Os índices baciloscópicos mais freqüentes foram o I e IV e o VI o menos freqüente. A faixa etária com mais de 14 anos foi a mais predominante e não houve diferenças significativas em relação ao sexo dos pacientes com hanseníase. De acordo com o nosso trabalho conclui-se que existe uma necessidade de ações prioritárias urgentes dos municípios e estados para um monitoramento da hanseníase, para alcançar a grande meta que é a eliminação da doença.

PALAVRAS-CHAVE - *Mycobacterium leprae*, hanseníase multibacilar, baciloscopia

SUMMARY - Hansen's disease is a infect-contagious illness caused by *Mycobacterium leprae*, bacillus that reaches the serious skin and nerves and cause disabilities and social, the more delayed it will be the diagnosis and treatment. In the Ceará hansen's disease has an expansion trend. This affirmation is based on one accented ascending trend in the taxes of detention of the illness. Had to this ascension this work had as objective to study hansen's disease in a unit of reference in the State of the Ceará, the period of 2000 the 2002. It was carried through in years 2000, a 2001 and 2002 study retrospective, where were studied the baciloscopias stain for the technique of Zielh Neelsen carried through in patients with hansen's disease, in the Center of Dermatology Dona Libânia, in the City of Fortaleza. The frequency of positive of 12.46% in the year of 2000, 11.17% in the year of 2001 and 16.15% in the year of 2002. The new cases of hansen's disease had been 789 in 2000, 923 in 2001 and 890 in 2002. The indices more frequent bacilloscopic had been I and IV and VI the less most frequent one. The years with more than 14 years was most predominant and it did not have differences significant in relation to the sex of the patients with hansen's. In accordance with our work concludes that a necessity of with priority actions exists urgent of the cities and states for a monitorament of hansen's disease it stops to reach the great goal that is the elimination of the illness.

KEYWORDS - *Mycobacterium leprae*, hansen's disease, mutibacillar, bacilloscopic

INTRODUÇÃO

A hanseníase é um sério problema de Saúde Pública nos países em desenvolvimento. Durante séculos, a inexistência de terapêutica eficaz contribui para a permanência dessa doença. Essa enfermidade é uma das importantes causas de invalidez nos países em desenvolvimento. O estigma ou preconceito social que a ela se associa, assim como, a elevada transcedência contribui para o agravamento do problema².

A hanseníase é uma doença infecto-contagiosa causada pelo *Mycobacterium leprae*, bacilo que atinge a pele e nervos e causa sérias incapacidades físicas e sociais, quanto mais tardio for o diagnóstico e tratamento⁶. O contágio se dá através do contato entre indivíduos saudáveis e casos contagiantes da doença (multibacilares) sem tratamento. Estudos mostram que grande parte da população é resistente à doença, entretanto, pode-se garantir que a doença encontra-se em expansão, quando muitas pessoas são atingidas, em especial as crianças, e quando aparecem doentes com

incapacidades físicas e forma clínica tuberculóide no momento do diagnóstico³.

Em um país endêmico como o Brasil, se uma pessoa apresenta lesão de pele, com perda de sensibilidade, deve ser considerada suspeita de Hanseníase (sintoma dermatológico)².

Hoje, a hanseníase, é uma doença de fácil diagnóstico e tratamento. Os esquemas de Poliquimioterapia/PQT/OMS, recomendados para o tratamento dos doentes, levam à cura em períodos curtos a nível Ambulatorial, nos Centro e Postos de Saúde da rede básica, não havendo necessidade de especialistas ou equipamentos sofisticados para o desenvolvimento das atividades de controle da doença⁴.

O Brasil ocupa o segundo lugar no mundo em número absoluto de casos de hanseníase, sendo o primeiro lugar das Américas. A doença é endêmica em todo o território nacional, embora com distribuição irregular. As regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste são as que apresentam as maiores taxas de detecção (incidência) e prevalência da doença. Em 1991, a Organização Mundial de Saúde, animada com os resultados da queda do número de Casos registrados

Recebido em 20/12/2005

Aprovado em 24/11/2006

*Trabalho realizado no Centro de Dermatologia Dona Libânia, da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará.

¹Laboratório Central de Saúde Pública da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará

²Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia Odontologia e Enfermagem da UFC

³Centro de Dermatologia Dona Libânia/Secretaria de Saúde do Estado do Ceará.

graças à implantação da poliquimioterapia PQT/OMS, propôs a eliminação da doença como Problema de Saúde Pública no mundo, ou seja, que até o ano de 2000 todos os países endêmicos alcançarem a taxa de prevalência de menos de 1 doente a cada 10.000 habitantes. No Brasil, a taxa, porém, varia de 0,53/10.000 habitantes no Rio Grande do Sul até 17,39/10.000 habitantes no Amazonas³.

Ao analisar a evolução da endemia hansênica no Ceará, percebe-se uma tendência da expansão. Essa afirmação baseia-se em uma acentuada tendência ascendente nas taxas de detecção. Essas taxas situam o Estado do Ceará como um dos maiores endêmicos da região nordeste, só superado pelos estados do Maranhão, Piauí e Sergipe. Em se tratando em número de casos, o Estado Cearense, se coloca na posição de terceiro lugar na região².

De acordo com o que foi dito acima e a importância da Hanseníase em todo o mundo foi realizado este trabalho e principalmente devido à grande preocupação em Saúde Pública deste tema, por causa do crescimento de casos novos de hanseníase no Ceará, no Brasil e em todo mundo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado nos anos 2000, 2001 e 2002 um estudo retrospectivo¹⁰, onde foram estudadas as baciloscopias coradas pela técnica de Zielh Neelsen, realizadas em pacientes com hanseníase, no Centro de Dermatologia Dona Libânia, no Município de Fortaleza.

Utilizou-se amostra de materiais linfáticos que foi conduzida à baciloscopia e corados pelo Método de Ziehl-Neelsen, segundo as normas do Ministério da Saúde, sendo a quantificação dos bacilos efetuada pela escala logarítmica de Ridley⁹, classificação indicada para fins de pesquisa, baseada no espectro imunológico dos indivíduos afetados.

Foi feito um estudo estatístico a partir dos dados fornecidos pelo Centro de Dermatologia Dona Libânia, no Município de Fortaleza, que são observados neste trabalho.

De posse dos dados estatísticos, foi realizada uma avaliação das baciloscopias realizadas em pacientes com hanseníase multibacilar em uma unidade de referência do município de Fortaleza no estado do Ceará. Os índices baciloscópicos foram dados pelos números I, II, III, IV, V e VI, de acordo com o número de globos que aparecem nas colorações dos vários locais de coleta⁹.

RESULTADOS

No período estudado, os anos de 2000, 2001 e 2002, a frequência de positividade das amostras de materiais linfáticos à coloração de Zielh Neelsen, no Centro de dermatologia Dona Libânia, foi de 12,46% no ano de 2000, 11,17% no ano de 2001 e 16,15% no ano de 2002 (figura 1).

A figura 2 mostra os casos novos de hanseníase nos anos estudados. Foi observado que no ano de 2000 houve 789 casos novos, em 2001, 923 e no ano de 2002, 890 casos novos de hanseníase no estado do Ceará.

A tabela 1 mostra os índices baciloscópicos de pacientes com hanseníase no ano de 2000, mês a mês, no estado do Ceará. Foi observado que predominaram os índices I, IV e V com respectivamente 235, 145 e 127 casos positivos e o menor foi o índice VI com seis casos.

A tabela 2 mostra os índices baciloscópicos de pacientes com hanseníase no ano de 2001, mês a mês, no estado do Ceará. Foi observado que predominaram os índices I e IV com respectivamente 277 e 166 casos positivos e o menor foi o índice VI com quatro casos.

A tabela 3 mostra os índices baciloscópicos de pacientes com hanseníase no ano de 2002, mês a mês, no estado do Ceará. Foi observado que predominaram os índices I e IV com respectivamente 260 e 181 casos positivos e o menor foi o índice VI com oito casos.

De acordo com a faixa etária dos pacientes com hanseníase no estado do Ceará, foi observado, de acordo com a figura 3, que no ano de 2000, a faixa mais freqüente é com mais de 14 anos de idade, com 747 casos. Nos anos de 2001 e 2002 foi observada, também, mais freqüente esta faixa etária, com respectivamente 864 e 829 de pacientes com hanseníase.

Em relação ao sexo dos pacientes com hanseníase, foi observado que no ano de 2000 houve 387 do sexo feminino e 399 do sexo masculino; no ano de 2001, 457 do sexo feminino e 463 do sexo masculino; e no ano de 2002, 455 do sexo feminino e 434 do sexo masculino (figura 4). Como pode ser observado não existem diferenças entre as freqüências dos sexos dos pacientes com hanseníase no estado do Ceará.

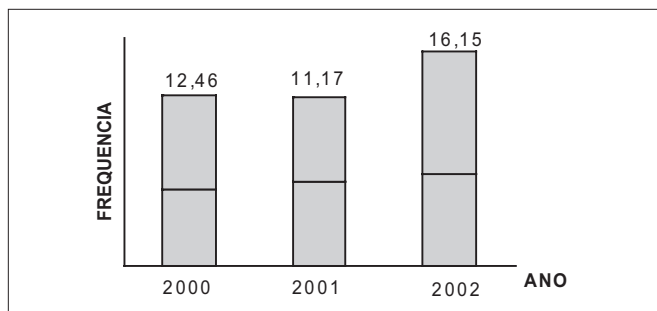


FIGURA 1: Frequência de Hanseníase em uma unidade de referência no Estado do Ceará nos anos de 2000, 2001 e 2002.

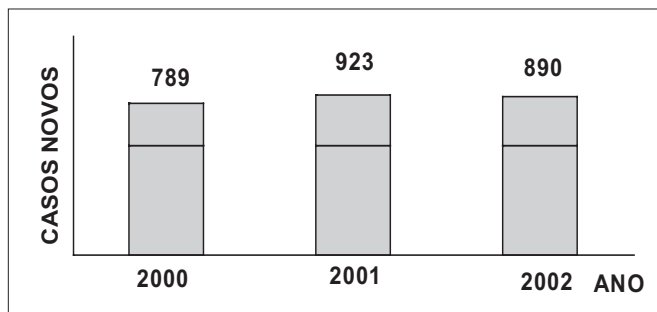


FIGURA 2: Número de casos novos de hanseníase em uma unidade de referência no Estado do Ceará nos anos de 2000, 2001 e 2002.

TABELA 1

Índices baciloscópicos de pacientes com hanseníase no ano de 2000 no estado do Ceará

MÊS	ÍNDICE BACILOSCÓPICO						
	I	II	III	IV	V	VI	TOTAL
JANEIRO	21	10	08	11	06	00	56
FEVEREIRO	20	10	09	18	15	02	64
MARÇO	16	03	07	07	09	02	44
ABRIL	17	01	07	13	09	00	47
MAIO	15	03	10	12	10	02	52
JUNHO	23	05	06	13	16	00	63
JULHO	20	06	07	14	05	00	52
AGOSTO	30	03	04	11	11	00	59
SETEMBRO	22	06	03	14	14	00	69
OUTUBRO	20	04	09	13	13	00	54
NOVEMBRO	15	09	11	07	07	00	49
DEZEMBRO	16	09	05	12	12	00	54
TOTAL	235	69	86	145	127	6	663

TABELA II
Índices baciloscópicos de pacientes com hanseníase no ano de 2001 no estado do Ceará

MÊS	ÍNDICE BACILOSCÓPICO						
	I	II	III	IV	V	VI	TOTAL
JANEIRO	42	15	06	14	6	01	84
FEVEREIRO	14	02	04	17	10	00	55
MARÇO	28	03	06	15	12	00	64
ABRIL	22	09	05	12	05	00	53
MAIO	26	10	06	05	06	00	53
JUNHO	19	03	13	09	05	01	50
JULHO	12	06	08	14	06	00	46
AGOSTO	27	15	15	19	08	00	84
SETEMBRO	20	05	05	12	07	00	49
OUTUBRO	30	07	10	18	06	00	71
NOVEMBRO	24	14	09	19	04	00	70
DEZEMBRO	13	05	08	12	05	02	45
TOTAL	277	94	95	166	80	04	716

TABELA III
Índices baciloscópicos de pacientes com hanseníase no ano de 2002 no estado do Ceará

MÊS	ÍNDICE BACILOSCÓPICO						
	I	II	III	IV	V	VI	TOTAL
JANEIRO	24	08	10	05	07	03	56
FEVEREIRO	14	06	09	13	02	01	64
MARÇO	18	08	02	14	04	00	44
ABRIL	25	10	08	13	07	01	47
MAIO	23	10	09	22	02	00	52
JUNHO	17	05	05	12	09	01	63
JULHO	18	09	09	18	07	01	52
AGOSTO	27	12	13	19	04	00	59
SETEMBRO	19	01	07	14	06	00	69
OUTUBRO	31	09	09	22	03	00	54
NOVEMBRO	21	11	04	13	03	01	49
DEZEMBRO	23	10	06	16	12	00	54
TOTAL	260	99	91	181	66	08	663

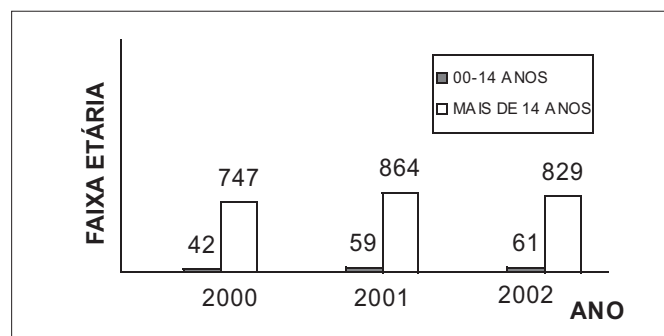


FIGURA 3: Faixa etária de pacientes com hanseníase em uma unidade de referência no estado do Ceará nos anos de 2000, 2001 e 2002.

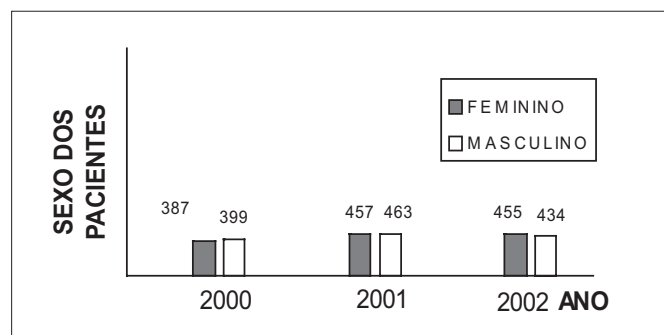


FIGURA 4: Sexo dos pacientes com hanseníase em uma unidade de referência no Estado do Ceará nos anos 2000, 2001 e 2002.

DISCUSSÃO

Neste trabalho verificou-se uma freqüência da incidência de 12,46% no ano de 2000, 11,17% no ano de 2001 e 16,15% no ano de 2002 (figura 1). Observou-se, com este resultado, um aumento da incidência de casos de hanseníase no período estudado. O Ceará vem registrando, nos últimos anos, um aumento nas taxas de detecção (incidência) da hanseníase. Os dados do período de 1986 a 2000 revelam uma tendência crescente. Em 1986 a taxa de detecção era de 1,17/10.000 habitantes, passando no ano de 2000 para 2,91⁽²⁾. As possíveis causas para esse aumento deve-se ao aumento da transmissão da doença e também aos fatores operacionais, através do aumento de cobertura.

De acordo com trabalho realizado por GALLO *et al.*, 2003, relacionando a classificação da hanseníase baseada no número de lesões cutâneas com os exames baciloscópicos, verificaram que 77,9% dos exames baciloscópicos foram positivos, dos quais, 11,4% apresentavam menos de cinco lesões e dos negativos 16% apresentavam mais de cinco lesões cutâneas, concluindo que o método baseado no número de lesões cutâneas para classificação dos pacientes hansenianos apresenta limitações que não invalidam sua operacionalidade⁵.

Observou-se neste trabalho que o número de casos novos de hanseníase no estado do Ceará foi 789, no ano de 2000; 923 em 2001; e, 890 de casos novos no ano de 2002 (figura 2). Estes dados são compatíveis com a tese de doutorado de MATOS, 2000⁷, onde o autor relata que a campanha de eliminação da hanseníase, patrocinada pela OMS e centrada na detecção e tratamento de casos novos alcançou relativo sucesso na redução da taxa de prevalência global da doença; entretanto, em algumas áreas, o coeficiente de detecção de casos novos continua crescendo, inclusive no Brasil.

Verificou-se de acordo com as tabelas 1, 2 e 3, os índices baciloscópicos dos anos 2000, 2001 e 2002. A tabela 1 mostra os índices baciloscópicos de pacientes com hanseníase no ano de 2000, mês a mês, no estado do Ceará. Foi observado que predominaram os índices I, IV e V com respectivamente 235, 145 e 127 casos positivos e o menor foi o índice VI com seis casos. Os índices foram sugeridos por RIDLEY, 1964. Estes índices foram classificados de acordo com a quantidade de globias visualizadas nas lâminas coradas pela técnica de Zielh Neelsen. Observamos que o índice seis é a forma mais grave e obtivemos apenas seis. Na tabela 2 verificamos os índices baciloscópicos de pacientes com hanseníase no ano de 2001, mês a mês, no estado do Ceará. Foi observado que predominaram os índices I e IV com respectivamente 277 e 166 casos positivos e o menor foi o índice VI com quatro casos⁹.

E, por último, em relação aos índices baciloscópicos de pacientes com hanseníase no ano de 2002, observou-se que predominaram os índices I e IV com respectivamente 260 e 181 casos positivos e o menor foi o índice VI com oito casos (tabela 3).

Em relação à faixa etária dos pacientes com hanseníase no estado do Ceará observou-se que no ano de 2000, a faixa mais freqüente é com mais de 14 anos de idade com 747 casos. Nos anos de 2001 e 2002 foi observada, também como mais freqüente, esta faixa etária com respectivamente 864 e 829 pacientes com hanseníase (figura 3). As faixas etárias deste trabalho foram fornecidas pelo Centro de Dermatologia Dona Libânia, que são classificados de zero a quatorze e mais de quatorze. AQUINO *et al.*, 1997, estudando o perfil de hanseníase em áreas hiper endêmicas no

Maranhão, verificaram que a maior frequência seria em pacientes com mais de 14 anos, dado este confirmado através deste estudo¹.

Observou-se, também, que existiu a ocorrência muito pequena de pacientes hansênicos do sexo masculino, nos anos estudados neste trabalho. No ano de 2000, 387 eram do sexo feminino e 399 do sexo masculino, não apresentando diferenças significativas entre os sexos. A mesma aconteceu com os sexos dos pacientes hansênicos dos anos 2001 (457 do sexo feminino e 463 do masculino) e 2002 (455 do sexo feminino e 434 do masculino) (figura 4). De acordo com o trabalho realizado por AQUINO *et al* 1997, em 1993 a 1996 a hanseníase foi mais freqüente nos homens do que nas mulheres de São Luís – MA. A partir de 1997, pode-se afirmar que houve crescimento significativo da taxa de detecção da hanseníase em mulheres. Dessa forma, o aumento da detecção geral em 1997 deve-se ao seu componente feminino.

A implantação de ações de controle da hanseníase em todas as unidades de saúde da rede básica, hoje, se apresenta como uma das soluções para o alcance da meta de eliminação. Esta implantação tem custo muito reduzido, pois não necessita de alta complexidade e os medicamentos e imunobiológicos são fornecidos pelo governo, sendo de responsabilidade dos municípios assessorados pelos Estados, a capacitação de recursos humanos, o planejamento, execução e avaliação das ações de controle, visando conduzir a uma nova realidade, na qual, os municípios assumem efetivamente a gerência do controle da hanseníase.

CONCLUSÃO

- A frequência de Hanseníase foram as seguintes:
 - no ano de 2000 - 12,46%
 - no ano de 2001 - 11,17%
 - no ano de 2002 - 16,15%
- De acordo com índices baciloscópicos:
 - no ano de 2000 foi freqüente os índices I, IV e V
 - no ano de 2001 foi freqüente os índices I, II e IV

- no ano de 2002 foi freqüente os índices I, IV e II.

- A faixa etária mais freqüente de pacientes hansênicos foi com mais de 14 anos
- Não houve diferenças significativas em relação ao sexo dos pacientes hansênicos.

REFERÊNCIAS

1. Aquino, P.M.; Mendes, A.J.; Moura, A.A. Perfil dos pacientes com Hanseníase em área hiperendêmica da Amazônia do Maranhão, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Vol. 6 no. 1, Jan/Fev, 1997.
2. Brasil. Boletim Epidemiológico Hanseníase, Fortaleza, 2001.
3. Brasil. Ministério da Saúde: Controle da Hanseníase: Uma proposta de Integração – Ensino Serviço. Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária. Rio de Janeiro, 1989.
4. Brasil. Ministério da Saúde: Guia para o Controle da Hanseníase. Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária. 2º Ed Rio de Janeiro, 1984.
5. Gallo, M.E.N. Alocação do paciente Hanseniano na poli quimioterapia, correlação da classificação baseada no número de lesões cutâneas com os exames baciloscópicos. Saúde Coletiva. Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1998.
6. Koneman, E.; Allen, S.D.; Janda, W.M.; Schreckenberger, P.C.; Winn, W.C. Diagnóstico microbiológico. 5ª. Edição, São Paulo, 2001.
7. Matos, H.J. Modelagem de Dados Epidemiológicos de contatos de Hanseníase em uma Coorte acompanhada na Fundação Oswaldo Cruz. Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2000
8. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE (OMS). Manual para o Controle da Hanseníase. N° 436, Rio de Janeiro, 1983.
9. Ridley, D.S. Bacterial Índices. In R. G. Cochrane e T. F. Davey. Leprosy in Theory and practice Bristol. John Wright and Sons LTDA, pp 620-22, 1964.
10. Rouquayrol, M.Z. & Almeida Filho, N. Epidemiologia e Saúde. 5ª. Edição. Rio de Janeiro, 1999

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Everardo Albuquerque Menezes
Rua Juazeiro do Norte, 199/302
CEP: 60.165-110 Fortaleza – Ceará
E-mail: menezes@ufc.br

 **Sociedade Brasileira de Análises Clínicas®**

IFCC WORLDLAB
Fortaleza - Brasil

20º Congresso Internacional de Bioquímica e Medicina Laboratorial
35º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
8º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

28 de setembro - 2 outubro/2008

Local:
Centro de Convenções do Ceará

Avaliação dos índices hematimétricos emitidos pelos contadores hematológicos Pentra 120 Range e Sysmex XT-2000i.

Evaluation of the hematimetric index emitted by hematological accountants Pentra 120 Screeches and Sysmex XT-2000i.

Hoffmann, Letícia Pinto¹; Polletti, Clarissa¹; Roehrig, Katyane Sganzerla¹; Aziz, Marina Meneses¹; Kuntz, Ana Karina¹; Dall'Cortivo, Giselle¹; Souza, Nicéia Mara Almeida.² & Santos-Silva, Maria Cláudia³

RESUMO - O avanço tecnológico permitiu o desenvolvimento de modernos contadores automatizados de células sangüíneas, os quais combinam diferentes métodos de avaliação de índices hematológicos. Considerando a importância destes índices no diagnóstico diferencial de anemias e a variabilidade dos resultados emitidos pelos diferentes contadores de células disponíveis no mercado, o objetivo desse trabalho foi analisar os resultados emitidos pelos contadores Sysmex XT-2000i e Pentra 120 Range através da comparação dos valores dos parâmetros hematimétricos obtidos pelos contadores e a análise morfológica da distensão do sangue periférico.

Foram analisados aleatoriamente 444 hemogramas de pacientes atendidos no Laboratório de Análises Clínicas do HU-UFSC, processados pelos contadores Pentra 120 Range e Sysmex XT-2000i e comparados com a análise morfológica da distensão sangüínea. Os resultados mostram que não há diferenças estatísticas entre os valores de VCM e RDW nos dois contadores e a análise morfológica das células. Além disso, a comparação dos valores de HCM e CHCM com a avaliação morfológica mostrou que os critérios utilizados pelos contadores Sysmex XT-2000i e Pentra 120 Range na análise do HCM são os mais compatíveis com a microscopia. Entretanto, em relação ao CHCM, apenas os resultados do Pentra 120 Range foram compatíveis estatisticamente. Assim, concluímos que o uso dos parâmetros hematimétricos devem ser criteriosos, e, que dependem do contador de células usado pelo laboratório. Por isso, o controle de qualidade é imprescindível, e, além disso, amostras com valores fora daqueles de referência requerem avaliação morfológica por microscopia óptica.

PALAVRAS-CHAVE - Índices hematimétricos, controle de qualidade, automação, Pentra 120, Sysmex xt-2000i.

SUMMARY - The technological progress allowed the development of modern automated accountants of blood cells, which combine different methods of evaluation of hematological parameters. Considering the importance of these parameters in the differential diagnosis of anemias and the variability of the results emitted by the different accountants of available cells in the market, the objective of this work was to analyze the results emitted by accountants Sysmex XT-2000i and Pentra 120 Range through the comparison of the values of the hematological parameters obtained by the accountants and the morphologic analysis of the distention of the blood cells.

444 hemograms of patients were randomly analyzed by Laboratory of Clinical Analyses of HU-UFSC, processed by the accountants Pentra 120 Screeches and Sysmex XT-2000i and compared with the morphologic analysis of blood cells. The results show that there are no statistical differences between the values of VCM and RDW in both accountants and the morphologic analysis of the cells. Besides, the comparison of the values of HCM and CHCM with the morphologic evaluation showed that the criteria used by accountants Sysmex XT-2000i and Pentra 120 Range in the analysis of HCM are the most compatible with the morphologic analysis. However, in relation to CHCM, just the results of Pentra 120 Range were statistically compatible. So, we concluded that the use of the hematological parameters should be discerning and that it depend on the accountant of cells used by the laboratory. Therefore, the quality control is indispensable and besides, samples with values out of those of reference request microscopical morphologic evaluation.

KEYWORDS - hematimetric index, quality control, automation, Pentra 120 Range, Sysmex xt-2000i.

INTRODUÇÃO

No Laboratório do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU/UFSC) aproximadamente 40% das requisições médicas de exames atendidos contém a solicitação de hemograma. Esse percentual mostra a importância do hemograma no diagnóstico e no controle evolutivo das doenças infecciosas, das doenças crônicas e no acompanhamento de quimio e radioterapia; pois através desse exame pode-se analisar as variações quantitativas e morfológicas das células sangüíneas⁽¹⁾.

O avanço tecnológico da segunda metade do século 20 permitiu a ampliação no mundo da informação, e, com isso, o desenvolvimento de modernos contadores automati-

zados de células sangüíneas. Essa nova tecnologia oferece recursos indispensáveis para a realização do hemograma, tanto em relação a velocidade de processamento, quanto em relação à qualidade das análises. Esses equipamentos combinam diferentes métodos de avaliação de alta tecnologia e precisão para analisar quantitativamente milhares de células, o que permite resultados mais precisos. A utilização desses equipamentos fornece também a avaliação de índices hematológicos e a visualização de histogramas, os quais demonstram a distribuição dos diferentes elementos analisados⁽¹⁾. Entre os recursos disponibilizados, pode-se citar: volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM), histogramas, amplitude da

Recebido em 21/12/2005

Aprovado em 17/11/2006

¹Alunas do Curso de Farmácia - Análises Clínicas,

²Farmacêutica-Bioquímica do Laboratório de Análises Clínica do Hospital Universitário

³Professora do Departamento de Análises Clínicas, Laboratório Avançado de Qualidade em Saúde- LAQUAS, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

distribuição dos eritrócitos (*red cell distribution width* – RDW), e volume plaquetário médio (VPM), além da contagem total de leucócitos, hemácias, dosagem de hemoglobina e hematócrito, utilizando pequenas amostras de sangue. Com a automatização nos laboratórios clínicos, cresceu a importância dos índices hematimétricos no diagnóstico diferencial das anemias. Por exemplo, valores de VCM abaixo de 82 fL parecem ser um indicador confiável de anemia microcítica⁽⁶⁾. Entretanto, esse indicador, por considerar o tamanho médio das células vermelhas, não fornece uma idéia da variabilidade do tamanho das células no sangue periférico. Sendo assim, deve ser utilizado em conjunto com o RDW⁽⁴⁾. Valores de RDW acima de 16% indicam a presença de populações celulares heterogêneas diretamente relacionadas com o grau de anisocitose⁽¹⁾. O RDW é um índice que auxilia na diferenciação das anemias microcíticas, principalmente entre anemia ferropênica e β talassemia minor⁽¹³⁾. Pacientes com β talassemia minor apresentam um VCM baixo com RDW usualmente normal ou discretamente elevado, enquanto aqueles com anemia ferropênica mostram um VCM baixo com RDW muito elevado^(3,14). Essa diferença de valores de RDW retrata as características morfológicas distintas das duas anemias, pois o tamanho das hemácias na anemia ferropênica é mais heterogêneo do que na β talassemia minor, devido a coexistência de hemácias produzidas em diversas fases da progressão da anemia. Na maioria dos casos de anemia ferropênica o valor do RDW altera-se antes do que qualquer outro parâmetro hematimétrico, mesmo antes da queda do VCM⁽¹¹⁾. De acordo com os resultados obtidos por Villas Boas *et al*⁽¹⁸⁾, o RDW mostrou ser pouco sensível, mas altamente específico para a presença de anisocitose. Isso assegura que valores anormais de RDW são altamente sugestivos de alterações na homogeneidade da população eritrocitária, necessitando uma análise morfológica acurada dos eritrócitos. Por outro lado, valores de RDW normais não devem afastar a possibilidade da presença de anisocitose. Entretanto, em relação ao parâmetro para definição de hipo e hiper Cromia, existem divergências entre qual é o mais fiel. Segundo Failace⁽⁶⁾, hipocromia e hiper Cromia devem ser definidas como baixa ou como aumento da concentração de hemoglobina (CHCM), e não da quantidade de hemoglobina dos eritrócitos (HCM). Por outro lado, Nascimento⁽¹⁵⁾, demonstrou que o CHCM só aparece diminuído nos casos de anemia microcítica hipocrômica em estágio mais avançado, sendo assim, o valor abaixo do normal do HCM reflete melhor a hipocromia. Considerando a importância dos índices hematimétricos no diagnóstico diferencial de anemias e a variabilidade dos resultados emitidos pelos diferentes contadores de células disponíveis no mercado, o objetivo desse trabalho foi analisar a confiabilidade dos resultados emitidos pelos contadores Sysmex XT 2000i e Pentra 120 Range através da comparação dos valores dos parâmetros hematimétricos obtidos pelos contadores e a análise morfológica da distensão do sangue periférico.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Foram analisadas 444 hemogramas de pacientes atendidos no Laboratório de Análises Clínicas do HU-UFSC. As amostras de sangue periférico coletadas com EDTA foram selecionadas aleatoriamente e processadas pelos contadores Pentra 120 Range e Sysmex XT-2000i, seguindo-se o procedimento do fabricante. Simultaneamente, controles internos, fornecidos pelos fabricantes dos contadores de

células, e externos, da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC) e da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica (SBPC), foram realizados. A metodologia dos aparelhos Pentra 120 Range e Sysmex XT-2000i baseia-se no princípio de impedância⁽¹²⁾. As distensões sanguíneas foram coradas pelo método MayGrunvald-Giemsa⁽⁵⁾ e a morfologia celular avaliada no microscópio óptico marca Olympus BX 41.

Para a análise dos dados foi utilizado o teste exato de Fisher.

RESULTADOS

Os resultados de 444 amostras processadas pelos contadores hematológicos Pentra 120 Range e Sysmex XT-2000i foram separados em quatro grupos VCM, RDW, HCM e CHCM, e, comparados com a análise morfológica da distensão sanguínea de acordo com os valores de referência adotados pelo Laboratório de Análises Clínicas HU-UFSC para VCM, RDW, HCM e CHCM, de 80-100 fL, 15,5%, 26-34 pg e 32-36 g/dL, respectivamente, em ambos contadores. Como pode ser observado na Figura 1, o percentual de compatibilidade das análises morfológicas dos eritrócitos foi de 79%, 90%, 66% para valores de VCM abaixo de 80 fL, entre 80 e 100 fL e acima de 100 fL emitidos pelo contador de células Pentra 120 Range. Resultados semelhantes, sem diferenças estatísticas segundo teste exato de Fisher ($p > 0,005$), foram observados quando as amostras foram processadas no contador Sysmex XT-2000i, 81%, 82,2% e 65% de compatibilidade com a análise morfológica para valores VCM abaixo, normal e acima do valor de referência adotado. Como citado anteriormente, o VCM deve ser utilizado em conjunto com o RDW no diagnóstico diferencial de anemias⁽⁴⁾. Assim, com a finalidade de analisar a importância dos resultados dos valores de RDW emitidos pelos contadores, dois grupos de amostras com RDW abaixo e acima de 15,5% foram comparados com a presença de microcitose e macrocitose na análise morfológica dos eritrócitos, pois valores diminuídos de RDW não apresentam significado diagnóstico. A Figura 2 mostra que em ambos contadores utilizados os valores de RDW são compatíveis com a análise morfológica, segundo teste exato de Fisher ($p > 0,005$).

Os parâmetros hematimétricos utilizados para indicação de quantidade e concentração de hemoglobina nos eritrócitos são HCM e CHCM, respectivamente, os quais definem a presença de hipo e hiper Cromia eritrocitária. Na Figura 3 pode-se observar que os valores das amostras analisadas no contador Pentra 120 Range apresentaram compatibilidade com a microscopia de 50%, 98,6% e 0% para valores de HCM abaixo, normal e acima dos referenciais, enquanto que o contador Sysmex XT-2000i apresentou 52,8%, 97,8% e 0% de compatibilidade nas amostras com HCM abaixo, normal e acima do valor de referência. De acordo com o teste exato de Fisher, não houve diferença significativa entre os dois aparelhos ($p > 0,005$), no entanto, em relação a análise morfológica por microscopia óptica e os valores de HCM abaixo de 26 pg, calculados pelos aparelhos, foi estatisticamente significativa ($p < 0,0001$).

A comparação dos valores de CHCM, obtidos nos dois contadores, com a morfologia mostrou que o contador Pentra 120 Range apresentou compatibilidade com a microscopia de 45%, 98,2% e 0% nas amostras com valores referenciais para CHCM baixos, normais e aumentados, respectivamente (Figura 4). Comparativamente o contador Sysmex XT-2000i apresentou maior incompatibilidade com a análise morfológica do que o Pentra 120 Range em amostras

com CHCM baixo, ou seja, apresentou apenas 18,2% de compatibilidade. Esta diferença foi estatisticamente significativa pelo teste exato de Fisher ($p < 0,005$). No entanto, em relação ao CHCM com valores de referência para CHCM normais e aumentados, não houve diferenças estatísticas entre os dois contadores. O CHCM das amostras com valores referenciais para CHCM normais e aumentados processadas no Sysmex XT-2000i apresentaram compatibilidade de 99,3% e 0% com a morfologia, respectivamente (Figura 4). A análise comparativa dos valores de CHCM liberados pelos aparelhos e a observação morfológica dos eritrócitos mostraram que a incompatibilidade dos resultados é estatisticamente significativa, segundo teste exato de Fisher ($p > 0,0001$).

A comparação entre os índices hematimétricos HCM e CHCM nos dois contadores, como indicador de hipocromia, mostrou que não houve diferença estatística entre os dois parâmetros analisados no contador Pentra 120 Range, no entanto, no contador Sysmex XT-2000i, o HCM demonstrou maior eficiência na indicação de hipocromia do que o CHCM ($p < 0,0002$).

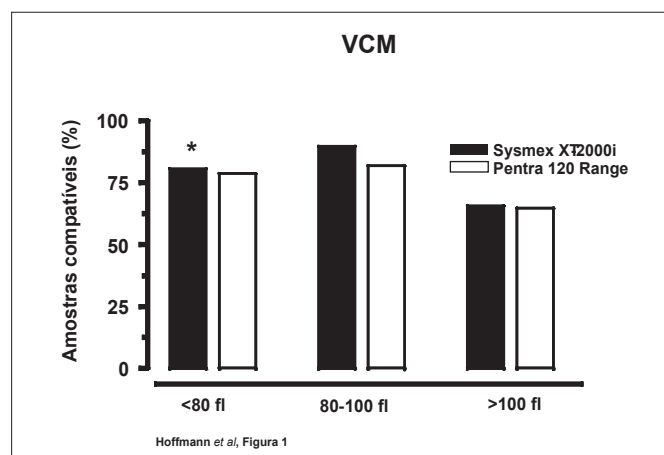


Figura 1: Porcentagem de valores de VCM das amostras processadas nos aparelhos Sysmex XT-2000 e Pentra 120 Range compatíveis com a microscopia óptica. * Estatisticamente significativa em relação à avaliação morfológica por microscopia óptica e # estatisticamente diferente em relação ao contador Sysmex XT-2000i, no teste exato de Fisher ($p < 0,0001$).

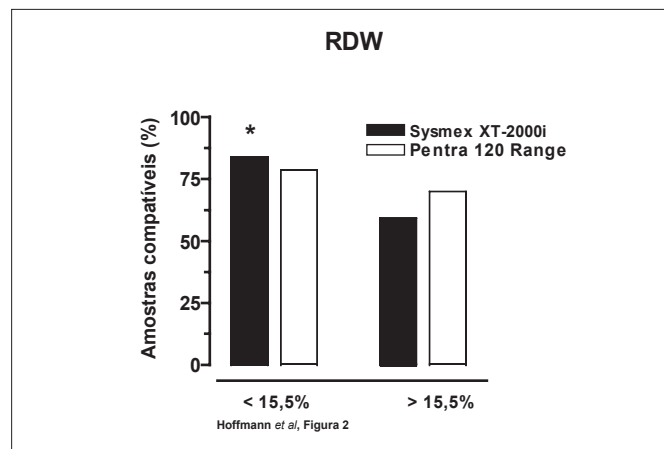


Figura 2: Porcentagem de valores de RDW das amostras processadas nos aparelhos Sysmex XT-2000 e Pentra 120 Range compatíveis com a microscopia óptica. * Estatisticamente significativa em relação à avaliação morfológica por microscopia óptica e # estatisticamente diferente em relação ao contador Sysmex XT-2000i, no teste exato de Fisher ($p < 0,0001$).

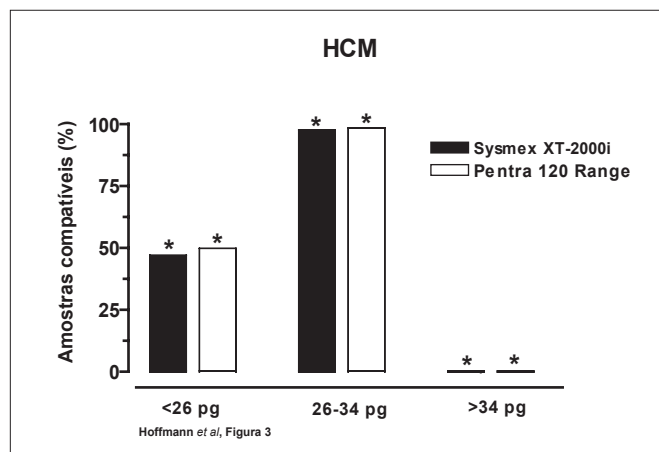


Figura 3: Porcentagem de valores de HCM das amostras processadas nos aparelhos Sysmex XT-2000 e Pentra 120 Range compatíveis com a microscopia óptica. * Estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) no teste exato de Fisher em relação a avaliação morfológica por microscopia óptica.

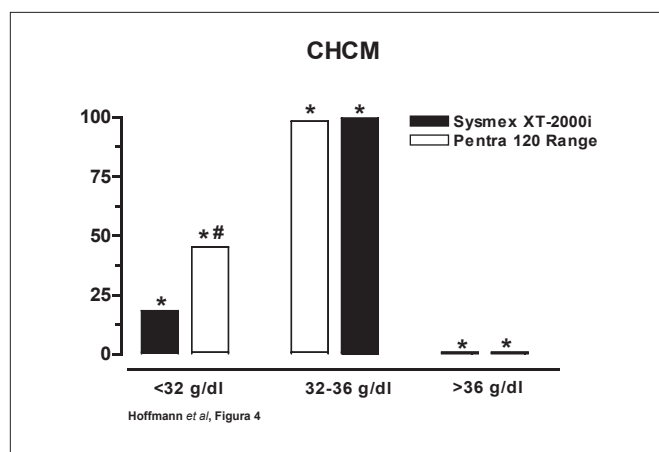


Figura 4: Porcentagem de valores de CHCM das amostras processadas nos aparelhos Sysmex XT-2000 e Pentra 120 Range compatíveis com a microscopia óptica. * Estatisticamente significativa em relação à avaliação morfológica por microscopia óptica e # estatisticamente diferente em relação ao contador Sysmex XT-2000i, no teste exato de Fisher ($p < 0,0001$).

DISCUSSÃO

Indubitavelmente, a automação têm proporcionado um aumento na eficiência e confiabilidade dos resultados emitidos pelos laboratórios de hematologia^(7,9,16). Contudo, há variações na sensibilidade dos contadores de células, por isso, a manutenção e o monitoramento dos aparelhos, como calibrações e análises de amostras controle, é de extrema importância na rotina laboratorial. Além disso, muitas alterações não são detectadas pelos aparelhos, os quais emitem apenas alarmes ou não as detectam, como a policromatofilia, pecilocitose, eliptócitos, esferócitos, acantócitos, inclusões (Howell-Jolly, pontilhado basófilo), eritoblastos, Rouleaux, drepanócitos, granulações tóxicas, desvio à esquerda sem neutrofilia, corpos de Döhle, anomalias de Pelger-Huët, plasmócitos, linfócitos atípicos sem linfocitose, blastos e *Hairy cells*, as quais podem sugerir patologias específicas, orientando, conseqüentemente, a investigação etiológica⁽⁶⁾. Sendo assim, nesses casos, há necessidade da avaliação morfológica da distensão sangüínea^(6,10,17). Por isso, a importância de avaliar e comparar os resultados dos

índices hematimétricos emitidos pelos contadores de células utilizados no Laboratório de Análises Clínicas HU-UFSC com a análise morfológica dos eritrócitos, e averiguar qual é o melhor indicador para hipocromia.

O uso progressivo dos índices hematimétricos como parâmetro de diagnóstico diferencial de anemias^(1,2,4,6,13), aumenta o comprometimento do Laboratório de Hematologia na emissão desses resultados. Assim, inicialmente avaliamos se havia compatibilidade entre os valores de VCM emitidos pelos aparelhos Sysmex XT-2000i e Pentra 120 Range e a análise morfológica de eritrócitos normais, de microcitose ou de macrocitose nas amostras analisadas. Como pode ser observado na Figura 1, os valores de VCM emitidos pelos aparelhos não apresentaram diferenças estatísticas em relação a análise microscópica. Entretanto, como esse parâmetro não avalia a variabilidade de tamanho, avaliamos em conjunto com o RDW. Os resultados de RDW emitidos pelos dois aparelhos mostraram concordância quando os valores estão dentro da faixa de valores normais, no entanto, o aparelho Pentra 120 Range parece ser mais sensível na análise das amostras com RDW aumentado do que o aparelho Sysmex XT-2000i. Embora esses resultados não sejam estatisticamente significantes, sugerem que há diminuição da sensibilidade dos aparelhos quando eles analisam amostras sanguíneas com microcitose e/ou microcitose. Dessa forma, há necessidade da análise morfológica por microscopia óptica antes da emissão do laudo laboratorial. Outro aspecto importante no diagnóstico diferencial de anemias a ser considerado é a presença ou não de hipocromia, o qual é identificado na análise morfológica dos eritrócitos e a partir do HCM e CHCM. A comparação dos valores de HCM e CHCM com a avaliação morfológica das 444 amostras da rotina laboratorial do setor de hematologia do LAC-HU mostrou que os critérios utilizados pelos contadores Sysmex XT-2000i e Pentra 120 Range na análise do HCM são os mais compatíveis com a microscopia, no entanto, em relação ao CHCM, apenas os resultados do Pentra 120 Range foram compatíveis estatisticamente. Os nossos resultados, ao contrário daqueles obtidos por outros autores^(6,8), mostram que o HCM é o melhor indicador da concentração de hemoglobina para o aparelho Sysmex XT-2000i. Os resultados apresentados indicam que o uso dos parâmetros hematimétricos devem ser criteriosos, e, que dependem do contador de células usado pelo laboratório. Por isso, o controle de qualidade é inevitável, e, além disso, amostras com valores fora daqueles de referência requerem avaliação morfológica por microscopia óptica. Por isso, laboratórios que utilizam aparelhos com análise de múltiplos parâmetros, devem estabelecer critérios para liberação direta dos resultados por interfaceamento, baseados nos valores de referência avaliados no aparelho utilizado.

REFERÊNCIAS

1. ARTAZA, J.R.; CARBIA, C.D.; CEBALLO, M.F. Índice de distribución de glóbulos rojos (RDW): Su aplicación en la caracterización de anemias microcíticas e hipocrômicas. *Medicina*, 59(1), p 17-22, 1999.
2. ASLAN, D. et al. Importance of RDW Value in Differential Diagnosis of Hypochrome Anemias. *American Journal of Hematology*, 69, p 31-33, 2002.
3. BESSMANN, J. D.; GILMER, P. R.; GARDNER, F.H. Improved classification of anemias by MCV and RDW. *Am J Clin Pathol*, v. 80 p. 322-6, 1983
4. COOK, J.D.; BAYNES, R.D.; SKIKNE, B.S. Iron deficiency and the measurement of iron status. *Nutr. Res. Rev*, 5, p 189-202, 1992.
5. DACIE, S.J.V.; LEWIS, S.M. *Practical Haematology*. 8 ed. New York: Churchill Livingstone, 1995
6. FAILACE, R. Eritrograma. In: *Hemograma: Manual de Interpretação*. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2003. 39-54p.
7. FAILACE, R.; PRANKE, P. Avaliação dos critérios de liberação direta dos resultados de hemogramas através de contadores eletrônicos. *Rev. Bras Hematol e Hemoter*, v. 26, n. 3, p. 159-166, 2004.
8. HADLER, M.C.C.M.; JULIANO, Y.; SIGUEM, D.M. Anemia do lactante: etiologia e prevalência. *Jornal de Pediatria*, 78(4), 2002.
9. KOENN, M.E. et al. Comparison of four automated haematology analysers. *Clin Lab Sci*, v. 14, p. 238-42, 2001.
10. MATSUNO, K.; ISHIZUKA, S. New technology of automated blood cell differential counting. *Rinsho Byori*, v. 46, p. 361-6, 1998.
11. MCCLURE, S. et al. RDW is the earliest predictor of iron deficiency. *Blood*, v. 62, n. 1, p. 51, 1983.
12. MEER, W.; DINNISSEN, J.M.B.; KEUZER, M.H. Evaluation of the Sysmex XT-2000i, a New Automated Haematology Analyser. *Sysmex Journal International*, 12 (2), p 71-75, 2002.
13. MELO, M.R., et al. Uso de Índices Hematimétricos no Diagnóstico Diferencial de Anemias Microcíticas: Uma Abordagem a Ser Adotada? *Rev. Assoc. Med. Bras.*, 48(3), p 222-4, 2002.
14. MIGUEL, A. et al. Red cell distribution width analysis in differentiation between iron deficiency and thalassemia minor. *Acta Haematol*, v. 80, p. 59, 1988.
15. NASCIMENTO, M. Concentração de Hemoglobina Globular Média (Mchc%) não é o Melhor Indicador da Hipocromia. *LAES&HAES*, v.147: p. 130 - 141, 2004.
16. PENG, L. et al. Laboratory evaluation of the Sysmex SE-9500 automated haematology analyzer. *Clin Lab Haematol*, v. 23, p. 237-42, 2001.
17. RYAN, D.H. Automated analysis of blood cells. In: *HOFFMANN, R.; BENZ, E.J.; SHATTIL, S.J. Hematology - Basic Principles and Practice*. 2. ed. New York: Churchill Livingstone, 1995. p. 2223-35.
18. VILLAS BOAS, M.V.C., et al. Utilidade do RDW-SD como auxiliar na interpretação das alterações morfológicas dos eritrócitos. *NewsLab*, 41, p 8-9, 2000.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Maria Cláudia Santos da Silva
Laboratório de Análises Clínicas/Hospital Universitário-UFSC
Campus Universitário - Florianópolis
CEP: 88040-900, SC, Brasil
FAX: 48 3319542
Email: maclau@ccs.ufsc.br

IFCC WORLDLAB

Fortaleza - Brasil

20º Congresso Internacional de Bioquímica e Medicina Laboratorial

35º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas

8º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

28 de setembro - 2 outubro/2008

Local:

Centro de Convenções do Ceará

Extrato Aquoso de *Baccharis trimera* (Asteraceae) Diminui a Inflamação e o Dano Celular em Pleurisia Induzida por Veneno de *Dirphia* sp. (Saturniidae)*

Aqueous Extract of *Baccharis trimera* (Asteraceae) Decreases Inflammation and Cellular Damage in Pleurisy Induced by *Dirphia* sp. (Saturniidae) Venom*

Carlos Eduardo Leite¹, Adroaldo Lunardelli², Telmo Abelin Castaman³, Elisiane Losa Paul⁴ & Jarbas Rodrigues de Oliveira⁵

RESUMO - Acidentes com animais peçonhentos são muito frequentes no Brasil. A correta identificação destes animais e o pronto atendimento dos pacientes diminuem a morbidade e a mortalidade dos eventos subsequentes. O contato com as toxinas do veneno das lagartas do gênero *Dirphia* (Saturniidae) desencadeia eventos clínicos importantes. Experimentos recentes em nosso laboratório comprovaram que tais toxinas possuem propriedades inflamatórias. A *Baccharis trimera* (Asteraceae), conhecida como carqueja, é uma planta cujos estudos têm demonstrado efeito antiinflamatório e ação sobre componentes de algumas toxinas componentes do veneno de espécies de *Bothrops*. Com o objetivo de avaliar a ação do extrato aquoso da *Baccharis trimera* sobre os efeitos induzidos pela inoculação do veneno de *Dirphia* sp. utilizou-se como modelo de inflamação aguda a pleurisia. Nossos experimentos avaliaram parâmetros inflamatórios e de dano celular como: volume de exsudação plasmática, concentração protéica no exsudato, contagem de leucócitos totais, contagem diferencial de leucócitos e a atividade da lactato desidrogenase (LDH). A administração do extrato aquoso da carqueja é capaz de reverter, ao menos em parte, os efeitos danosos induzidos pelas toxinas de *Dirphia* sp., sendo competente na redução da contagem de leucócitos totais, leucócitos polimorfonucleares (PMNs) e da atividade da lactato desidrogenase.

PALAVRAS-CHAVE - *Dirphia* sp., *Baccharis trimera*, pleurisia, inflamação, efeito antiinflamatório.

SUMMARY - Accidents with venomous animals are very frequent in Brazil. The correct identification of these animals and quickness of help to patients reduces morbidity and mortality of the subsequent events. Contact with the toxins of caterpillars' venom of *Dirphia* genus (Saturniidae) breaks out important clinical occurrences. Earlier experiments in our laboratory showed that those toxins have inflammatory properties. *Baccharis trimera*, known as carqueja, is a plant that shows anti-inflammatory effects and action over some venom toxins of *Bothrops* species. With the objective of evaluating the action of *Baccharis trimera*'s aqueous extract in relation to the effects induced by inoculation of *Dirphia*'s venom we utilized the pleurisy as a model of acute inflammation. Our experiments, evaluated inflammatory and cellular damage parameters such as: volume of plasmatic exudation, protein concentration in the exsudate, total leucocytes count, leucocytes differential cell count and the activity of the lactate dehydrogenase (LDH). The administration of Carqueja aqueous extract can revert, in part, the harmful effects induced by the toxins of *Dirphia*'s venom, it is a competent in the reduction of the total leucocytes count, the polymorphonuclear leucocytes (PMNs) and the activity of the lactate dehydrogenase (LDH).

KEYWORDS - *Dirphia* sp., *Baccharis trimera*, pleurisy, inflammation, antiinflammatory effect.

INTRODUÇÃO

Acidentes com animais peçonhentos são muito frequentes no Brasil, um país tropical. A medida em que há desmatamento, aliado ao favorecimento climático, à diminuição dos predadores e à maior oferta alimentar, há a possibilidade de ocorrer aumento da proliferação desses animais, pondo em risco a segurança até mesmo dos habitantes das zonas urbanas [8].

As taturanas do gênero *Dirphia* sp. (família Saturniidae), bem como outros lepidópteros são encontradas em várias regiões da América Latina e são conhecidas como pragas de plantação [19,26]. A importância dos lepidópteros em saúde pública se deve aos efeitos danosos causados ao homem, que ocorre através do contato das cerdas de algumas espécies de lagartas que contêm glândulas secretoras de toxinas [3]. Os acidentes ocorrem, na maioria dos casos, ao manusear galhos, troncos e folhagens [19]. O contato da pele humana com as cerdas da *Dirphia* sp. desencadeia sintomas que vão desde simples irritações na pele e reações alérgicas locais até queimaduras graves [4]. Estudos demonstram que o veneno dessa lagarta pode causar eritema [6], danos renal e hepático, alterações hematológicas e exsudação no local da inoculação [4].

Os produtos naturais vêm sendo utilizados na busca de novas opções para o combate a diferentes patologias. As plantas do gênero *Baccharis*, família Asteraceae, são utilizadas, na medicina popular, sob a forma de chá, no tratamento de diversos distúrbios [22]. O extrato das partes aéreas da *Baccharis trimera*, uma planta amplamente distribuída pela América do Sul [22], conhecida como carqueja, tem sido popularmente utilizada no tratamento de distúrbios digestivos, doenças hepáticas e renais, reumatismo, diabetes e processos inflamatórios [5,14]. Entre os efeitos biológicos desta planta, estão descritos a ação antiinflamatória, analgésica [10,11], hepatoprotetora [21], relaxante da musculatura lisa [22] e recentemente demonstrou-se um importante potencial antiofídico [14]. Estudos fitoquímicos demonstram, entre os componentes da *Baccharis trimera*, a presença de flavonóides e diterpenos, que estão relacionados alguns dos efeitos citados acima [5,10,17,22].

Modelos de pleurisia têm sido amplamente utilizados no estudo da fisiopatologia da inflamação aguda e na avaliação da eficácia de substâncias com potencial efeito antiinflamatório [1]. Em 2001, Castaman [4] demonstrou que a inoculação do veneno de *Dirphia* sp. no peritônio de ratos induz exsu-

Recebido em 21/02/2006
Aprovado em 29/09/2006

*Laboratório de Pesquisa em Biofísica, Departamento de Ciências Fisiológicas, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.
*Aluno do Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica, PUCRS. *Farmacêutico Bioquímico, Mestre em Biociências - Biologia Celular e Molecular, PUCRS.

³Biólogo, Mestre em Biociências - Zoologia, PUCRS. ⁴Farmacêutica Bioquímica, Mestre em Clínica Médica, UFRGS. ⁵Farmacêutico Bioquímico, Doutor em Bioquímica, Universidad de Barcelona, España, Professor da PUCRS.

dação local, sugerindo um potencial inflamatório. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito do extrato aquoso da *Baccharis trimera* na pleurisia induzida pelo veneno de *Dirphia* sp..

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a confecção do extrato das cerdas de *Dirphia* sp. (ECD), as taturanas (entre o quinto e sexto instar) foram coletadas na cidade de Viamão, Rio Grande do Sul. Foi feita a retirada das cerdas (na sua totalidade) e homogeneização em tampão fosfato salina (PBS). Este material foi centrifugado e o sobrenadante congelado e mantido a -70°C até a sua utilização [18]. Foi dosada a concentração de proteínas totais no ECD pela técnica do vermelho de pirogalol. O pH e osmolalidade do ECD foram de 7,4 e 284 mOsm/kg-, respectivamente.

As amostras da *Baccharis trimera* foram colhidas, durante o outono, nas dependências da Casa de Vegetação da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre. O extrato aquoso foi preparado segundo Simões *et al* [20]. À *Baccharis trimera* foi adicionada água destilada a uma temperatura de 80°C na proporção de uma parte de planta para cinco de água (1g de planta + 5 ml de água destilada), seguido de maceração e filtração. O extrato aquoso corresponde a concentração de 200mg/ml.

Foram utilizados *Rattus norvegicus* (Wistar), fêmeas adultas, com peso entre 180g e 220g, todas de mesma linhagem e socialização, com livre acesso a comida e água. Os grupos são compostos por seis exemplares cada.

Os animais foram anestesiados, e foi injetado 0,2 ml do ECD na dose de 0,04 miligramas de proteína por kilogramas (0,04mg/kg) de rato, através de uma incisão ao nível do sexto espaço intercostal esquerdo. A dose foi ajustada de acordo com a concentração protéica do veneno e o peso do animal. Após quatro horas, os animais foram sacrificados em atmosfera de CO_2 . Procedeu-se com a perfuração do diafragma e lavagem com 2,0 ml de solução salina estéril (NaCl 0,9%) contendo 1% de EDTA [1] para aspiração do exsudato. Exsudatos contaminados com eritrócitos foram descartados [9].

A *Baccharis trimera* foi administrada nas doses de 200mg/kg, 400mg/kg, 800mg/kg e 1600mg/kg por via intraperitoneal 30 minutos antes da inoculação do veneno no espaço pleural dos animais. No grupo ECD, o qual não recebeu o extrato da planta, foi administrado solução salina. No grupo controle foi administrado 1,0 ml de solução salina, por via intraperitoneal e 30 minutos depois foi inoculado no espaço pleural 0,2 ml de PBS.

Para a análise do perfil inflamatório e da lesão tecidual foram analisados os seguintes parâmetros: volume de exsudação, concentração protéica, contagem de leucócitos totais, diferencial citológico e dosagem da lactato desidrogenase (LDH). O volume de exsudato foi mensurado através da diferença entre o volume total coletado e o volume injetado na cavidade pleural (2,0 ml de solução salina). A contagem de leucócitos totais foi estimada através da diluição da amostra em líquido de Thoma (1:20) e posterior contagem em câmara de Neubauer. Foram confeccionadas lâminas citológicas, coradas com May-Grünwald/Giemsa, onde se fez a análise diferencial. O líquido pleural coletado foi centrifugado e, no sobrenadante, foi

dosada a concentração de proteínas pelo método do Biuret e a atividade da LDH foi quantificada espectrofotometricamente através da medida colorimétrica do NADH formado pela ação enzimática.

Os resultados foram submetidos à análise estatística de variância através do método ANOVA com post hoc de Tukey usando o software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 12.0 e são expressos por média $\pm$ erro padrão da média (EP). O nível de significância é definido com $P < 0,05$.

RESULTADOS

A inoculação do ECD induziu a exsudação na cavidade pleural de $2,43 \pm 0,08$ ml, demonstrando aumento significativo em relação ao controle, onde foi inoculado PBS, que resultou em $0,1 \pm 0,04$ ml. Os grupos tratados com 200mg/kg, 400mg/kg, 800mg/kg e 1600mg/kg apresentaram $2,43 \pm 0,11$ ml, $2,48 \pm 0,12$ ml, $2,55 \pm 0,14$ ml e $2,28 \pm 0,17$ ml de exsudação, respectivamente. Nenhuma das doses testadas foi capaz de reduzir significativamente a exsudação plasmática causada pelo ECD. Estes resultados são mostrados na figura 1.

A exsudação plasmática, analisada através da concentração protéica, corrobora os dados do volume de exsudação (figura 2), onde o grupo ECD, $2,70 \pm 0,10$ g/dl, apresenta um aumento significativo da concentração protéica em relação ao grupo controle, $0,23 \pm 0,10$ g/dl. Os grupos tratados com 200mg/kg, 400mg/kg, 800mg/kg e 1600mg/kg apresentaram as concentrações protéicas no exsudato de $2,65 \pm 0,06$ g/dl, $2,45 \pm 0,07$ g/dl, $2,38 \pm 0,07$ g/dl e $2,38 \pm 0,09$ g/dl, respectivamente, não tendo diferença significativa em relação ao grupo ECD.

No grupo ECD houve uma significativa migração de leucócitos totais para a cavidade pleural, onde encontrou-se $38,38 \pm 2,72 \times 10^6$ /cavidade (figura 3). Sendo esse aumento significativo em relação ao grupo controle, que apresentou $11,25 \pm 1,52 \times 10^6$ /cavidade. O grupo que recebeu a dose de 1600mg/kg do extrato aquoso da *Baccharis trimera*, apresentou diminuição significativa da migração de leucócitos totais, em relação ao grupo ECD. Já as doses de 200mg/kg ($32,70 \pm 2,32 \times 10^6$ /cavidade), 400mg/kg ($31,40 \pm 2,15 \times 10^6$ /cavidade) e 800mg/kg ($30,56 \pm 2,55 \times 10^6$ /cavidade) mostraram diminuição da migração de leucócitos totais, porém, essa diferença não foi significativa.

A figura 4 apresenta os valores de leucócitos PMNs diminuídos significativamente em relação ao grupo ECD na administração das doses de 800mg/kg ($26,00 \pm 2,14 \times 10^6$ /cavidade) e 1600mg/kg ($20,59 \pm 0,87 \times 10^6$ /cavidade). Os grupos controle, ECD, tratamento com 200mg/kg e 400mg/kg, apresentaram $3,2 \pm 0,28 \times 10^6$ /cavidade, $34,55 \pm 2,52 \times 10^6$ /cavidade, $28,99 \pm 2,05 \times 10^6$ /cavidade e $27,40 \pm 1,81 \times 10^6$ /cavidade, respectivamente.

Para avaliar o dano celular gerado pelo veneno e pelo processo inflamatório, bem como, a melhora do quadro inflamatório, dosamos a enzima LDH. O grupo ECD apresenta alta concentração dessa enzima no exsudato ($807 \pm 54,0$ U/l). As doses de 200mg/kg, 400mg/kg, 800mg/kg e 1600mg/kg apresentaram uma atividade significantemente menor que o do grupo ECD, sendo os valores $450 \pm 69,6$ U/l, $128 \pm 16,7$ U/l, $111 \pm 15,7$ U/l e $59 \pm 4,9$ U/l respectivamente. O grupo controle, o qual foi inoculado PBS na cavidade pleural, apresentou atividade de 28 ± 5 U/l.

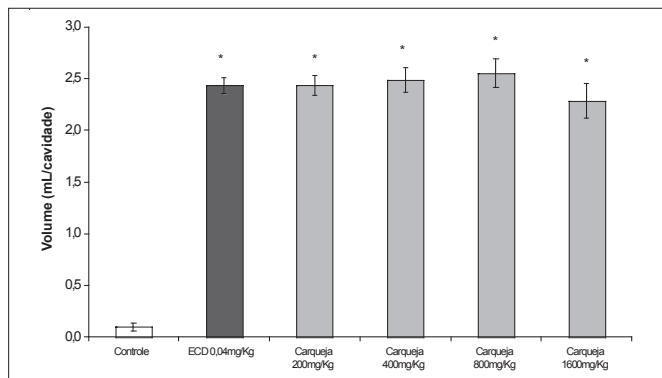


Figura 1 – Volume de exsudato presente na cavidade pleural. Resultados expressos em média $\pm$ EP. * $P < 0,05$ em relação ao grupo Controle Limpo.

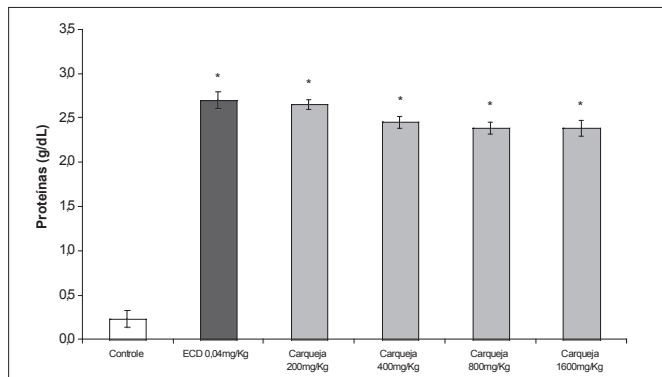


Figura 2 – Concentração de proteínas totais presentes na cavidade pleural. Resultados expressos em média $\pm$ EP. * $P < 0,05$ em relação ao grupo Controle Limpo.

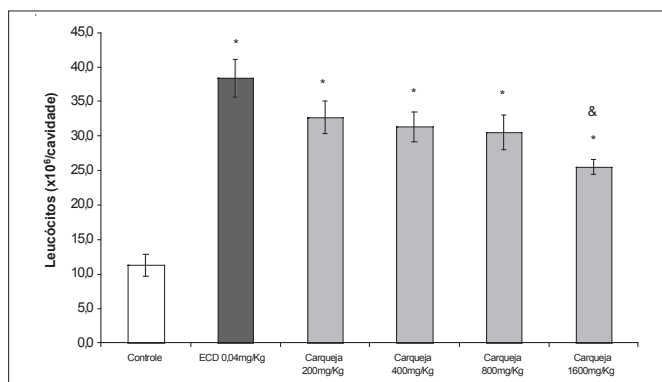


Figura 3 – Contagem de leucócitos totais presentes na cavidade pleural. Resultados expressos em média $\pm$ EP. * $P < 0,05$ em relação ao grupo Controle Limpo. & $P < 0,05$ em relação ao grupo ECD.

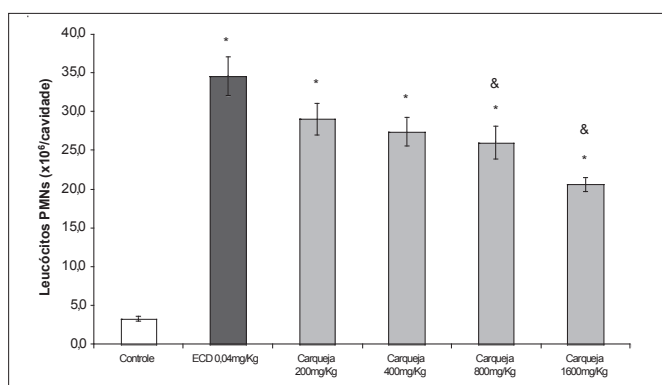


Figura 4 – Contagem de leucócitos polimorfonucleares (PMNs) presentes na cavidade pleural. Resultados expressos em média $\pm$ EP. * $P < 0,05$ em relação ao grupo Controle Limpo. & $P < 0,05$ em relação ao grupo ECD.

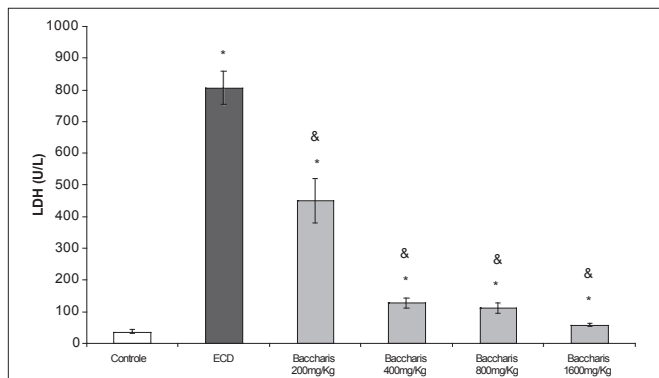


Figura 5 – Concentração de lactato desidrogenase (LDH) presente na cavidade pleural. Resultados expressos em média $\pm$ EP. * $P < 0,05$ em relação ao grupo Controle. & $P < 0,05$ em relação ao grupo ECD.

DISCUSSÃO

Uma resposta inflamatória aguda envolve células como macrófagos e neutrófilos, que secretam mediadores responsáveis pela iniciação, progressão e persistência da inflamação [15]. Entre estes mediadores estão a prostaglandina E2 (PGE2), o óxido nítrico [12,15] e a histamina [1]. A PGE2, sintetizada pela ciclooxigenase 2 (COX-2), está envolvida na produção de substâncias quimiotáticas e citocinas pró-inflamatórias. O óxido nítrico, sintetizado pelas óxido nítrico sintases (NOS), é responsável por vasodilatação, aumento de permeabilidade vascular e formação de edema no local da inflamação [15]. A histamina causa dilatação dos vasos sanguíneos da microcirculação, resultando em ruborização, baixa resistência periférica, e queda da pressão sanguínea sistêmica. Em associação a estes eventos a histamina também é responsável pelo aumento da permeabilidade capilar [2,13]. Este evento clássico resulta da passagem de proteínas plasmáticas e fluidos pelos espaços extracelulares, culminando no acúmulo de líquido e formação de edema [13]. A inflamação é um processo protetor e essencial para a preservação da integridade do organismo, mas é freqüente que a resposta inflamatória provoque lesões severas ocasionando erroneamente danos em tecidos normais [12]. Um exemplo importante deste mecanismo de lesão é a produção de espécies reativas do oxigênio (ERO), como ânions superóxido, peróxido de hidrogênio e peróxinitrito [7]. Esses que são importantes mediadores de dano celular [7,15]. A inoculação intrapleural do ECD induziu uma reação inflamatória aguda, caracterizada por acúmulo de exsudato pleural, aumento de proteínas plasmáticas, liberação de LDH e intensa migração de leucócitos, principalmente leucócitos polimorfonucleares (PMNs), para a cavidade pleural. O tratamento dos ratos com o extrato aquoso da *Baccharis trimera*, nas doses de 800mg/kg e 1600mg/kg, diminuiu a migração de leucócitos PMNs e a dose de 1600mg/kg diminuiu também a migração de leucócitos totais. No entanto, as doses testadas não tiveram efeito significativo sobre a exsudação pleural avaliada pelo volume de exsudação e concentração proteica do exsudato. A atividade da LDH diminuiu significativamente nos ratos tratados. Este efeito foi constatado em todas as doses testadas do extrato da planta. O ECD aumentou a migração de leucócitos para a pleura dos ratos e a administração intraperitoneal da *Baccharis trimera* foi capaz de atenuar esse efeito. Provavelmente esta ação ocorreu, pelo menos em parte, pela inibição da PGE₂, via bloqueio da ciclooxigenase. Mecanismo esse sugerido por Gene *et al* [10], em inflamação induzida por carragenina.

Um dos mediadores liberados pela inoculação do veneno de *Dirphia* sp. é a histamina [23], mas os efeitos da *Baccharis trimera* sobre os eventos da inflamação não parecem ser pela ação sobre este mediador, visto que não houve alteração sobre a exsudação plasmática e a concentração protéica do exsudato.

Estudos demonstram que a *Baccharis trimera* possui um potencial efeito antiofídico, inibindo o efeito hemorrágico, a atividade proteolítica, o edema e a miotoxicidade induzida pelo veneno de algumas espécies do gênero *Bothrops*. Este efeito parece ser pela inativação primária de metaloproteases e miotoxinas presentes nestes venenos [14]. Nosso estudo, quantificou a atividade da LDH, uma enzima citosólica liberada quando ocorre lise celular [16,17,24,25]. Os ratos tratados com o extrato de *Baccharis trimera* apresentaram uma quantidade menor de LDH na cavidade pleural, o que reflete a diminuição do dano celular e do processo inflamatório [24]. Devido ao fato dos componentes do ECD ainda serem desconhecidos, não se pode afirmar que o efeito da planta seja devido a alguma ação direta sobre os componentes do veneno. No entanto, muitos animais peçonhentos contêm constituintes em comum [14]. Sendo assim, a diminuição do dano celular pode ser devida à ação da *Baccharis trimera*, semelhante ao seu efeito sobre frações do veneno de serpentes, agindo sobre os constituintes do veneno de *Dirphia* sp., estes que são responsáveis pela lesão celular e ativação do processo inflamatório. Este efeito protetor pode ser sinérgico à ação dos flavonóides, presentes nesta planta, que podem estar atuando suprimindo a produção de ERO (que também são responsáveis pela lesão celular).

Em conclusão, o tratamento da inflamação induzida pelo veneno de *Dirphia* sp., com o extrato aquoso da *Baccharis trimera* é eficiente na diminuição dos leucócitos (principalmente dos leucócitos PMN, que são as células aumentadas caracteristicamente na inflamação aguda) e na atividade da LDH (que é liberada em consequência da lesão ou morte celular). Esses dados comprovam que o extrato aquoso da *Baccharis Trimera* possui ação antiinflamatória e citoprotetora. No entanto, são necessários estudos visando à identificação dos constituintes do veneno, o que ajudará a elucidar o mecanismo de ação do extrato aquoso da carqueja.

REFERÊNCIAS

- [1] Alves Filho JC, Santos RC, Castaman TA, de Oliveira JR. Anti-inflammatory effects of fructose-1,6-bisphosphate on carrageenan-induced pleurisy in rat. *Pharmacological Research*;49(3):245-8, 2004.
- [2] Barbosa AM, Amaral RO, Teixeira CFP, Hyslop S, Cogo JC. Pharmacological characterization of mouse hind paw oedema induced by *Bothrops insularis* (jararaca ilhoa) snake venom. *Toxicon*;42(5):515-23, 2003.
- [3] Cardoso JLC, França FOS, Wen FH, Málaque CMS, Haddad Jr V. Animais Peçonhentos no Brasil – Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes. São Paulo: 1º ed: Pag 211-223, Sarvier; 2003.
- [4] Castaman TA, Lunardelli A, Santos RCV, Assis M, Moresco RN, Oliveira JR. Estudos hematológicos e bioquímicos em *Rattus norvegicus* (wistar) submetidos à ação do veneno de *Dirphia* sp. *Revista da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas*;33(3):143-147, 2001.
- [5] Coelho MGP, Reis PA, Gava VB, Marques PR, Gayer CR, Laranja GAT, Felzenswalb I, Sabino KCC. Anti-arthritic effect and subacute toxicological evaluation of *Baccharis genistelloides* aqueous extract. *Toxicology Letters*;154(1-2):69-80, 2004.
- [6] Couppie P, Marty C, Sainte-Marie D, Pradinaud R. Poisonous caterpillars in French Guyana. *Annales de Dermatologie et de Venereologie*;125(8):489-491, 1998.
- [7] Cuzzocrea S, McDonald MC, Filipe HM, Costantino G, Mazzon E, Santagati S, Caputi AP, Thiemermann C. Effects of tempol, a membrane-permeable radical scavenger, in a rodent model of carrageenan-induced pleurisy. *European Journal of Pharmacology*;390(1-2):209-22, 2000.
- [8] Freitas JC. Veneno e peçonha. In: Nicoletta A, Barros E, Torres JB, Marques MG. Acidentes com animais peçonhentos – Consulta rápida. Porto Alegre: Hospital de Clínicas de Porto Alegre;31-36, 1997.
- [9] Fröde-Saleh TS, Calixto JB, Medeiros YS. Analysis of the inflammatory response induced by substance P in the mouse pleural cavity. *Peptides*;20(2):259-65, 1999.
- [10] Gene RM, Cartana C, Adzet T, Marin E, Parella T, Canigual S. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Baccharis trimera*: identification of its active constituents. *Planta Medica*;62(3):232-5, 1996.
- [11] Gene RM, Marin E, Adzet T. Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of three species of the genus *Baccharis*. *Planta Medica*;58(6):565-6, 1992.
- [12] Habashy RR, Abdel-Naim AB, Khalifa AE, Al-Azizi MM. Anti-inflammatory effect of jojoba liquid wax in experimental models. *Pharmacological Research*;51(2):95-105, 2005.
- [13] Hardman JG, Gilman AG, Limbird LE. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th edition. Chapter 25, pag 583-586, McGraw-Hill; 2001.
- [14] Januario AH, Santos SL, Marcussi S, Mazzi MV, Pietro RC, Sato DN, Ellena J, Sampaio SV, Franca SC, Soares AM. Neo-clerodane diterpenoid, a new metalloprotease snake venom inhibitor from *Baccharis trimera* (Asteraceae): anti-proteolytic and anti-hemorrhagic properties. *Chemico-Biological Interactions*;150(3):243-51, 2004.
- [15] Kaur G, Hamid H, Ali A, Alam MS, Athar M. Antiinflammatory evaluation of alcoholic extract of galls of *Quercus infectoria*. *Journal of ethnopharmacology*;90(2-3):285-92, 2004.
- [16] Newton H, Fisher J, Arnold JR, Pegg DE, Faddy MJ, Gosden RG. Permeation of human ovarian tissue with cryoprotective agents in preparation for cryopreservation. *Human Reproduction*;13(2):376-80, 1998.
- [17] Potapovich AI and Kostyuk VA. Comparative Study of Antioxidant Properties and Cytoprotective Activity of Flavonoids. *Biochemistry*;68(5):514-519, 2003.
- [18] Ramos AT, Gonçalves LRC, Ribeiro OG, Rocha Campos AC and Sant'Anna OA. Effects of *Lonomia obliqua* (Lepidoptera, saturniidae) toxin on clotting, inflammatory and antibody responsiveness in genetically selected lines of mice. *Toxicon*;43(7):761-8, 2004.
- [19] Schvartsman S. Plantas venenosas e animais peçonhentos. São Paulo: Sarvier; 1992.
- [20] Simões CMO, Schenkel EP, Gosman G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia da planta ao medicamento. 2 edição. Editora da UFRGS e UFSC; 2000.
- [21] Soicke H, Leng-Peschlow E. Characterization of flavonoids from *Baccharis trimera* and their antihepatotoxic properties. *Planta Medica*;53(1):37-39, 1987.
- [22] Torres LMB, Gamberini MT, Roque NF, Lima-Landman MT, Souccar C, Lapa AJ. Diterpene from *Baccharis trimera* with a relaxant effect on rat vascular smooth muscle. *Phytochemistry*;55(6):617-619, 2000.
- [23] Valle JR, Picarelli ZP, Prado JL. Histamine content and pharmacological properties of crude extracts from setae of urticating caterpillars. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de therapie*;XCVIII, n° 3 pp.324-334, 1954.
- [24] Xu H, Verbeken E, Vanhooren HM, Nemery B, Hoet PH. Pulmonary toxicity of polyvinyl chloride particles after a single intratracheal instillation in rats. Time course and comparison with silica. *Toxicology and Applied Pharmacology*;194(2):111-121, 2004.
- [25] Yamawaki H, Iwai N. Mechanisms underlying nano-sized air-pollution-mediated progression of atherosclerosis: carbon black causes cytotoxic injury/inflammation and inhibits cell growth in vascular endothelial cells. *Circulation Journal*;70(1):129-140, 2006.
- [26] Zanon JC, Nascimento EC, Garcia JF, Zanon TV. Major lepidopterous defoliators of eucalypt in southeast Brazil. *Forest Ecology and Management*;65(1):53-63, 1994.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Dr. Jarbas Rodrigues de Oliveira
Laboratório de Pesquisa em Biofísica
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 12C - Sala 263 - C.P.1429
Porto Alegre - RS - Brasil
Fone: + 55 51 3320 3500, Ramal: 4147
FAX: + 55 51 3320-3612
Email: jarbas@pucrs.br

Prevalência de Vaginites infecciosas através da Citologia Clínica: Um estudo no Laboratório Central de Saúde Pública do Piauí*

Prevalence of Vaginitis infectious through the Clinical Cytology: A study in the Central Laboratory of Public Health of the Piauí

Evaldo Hipólito de Oliveira¹ & Leonardo Ferreira Soares²

RESUMO - Introdução: A flora vaginal normal é constituída por uma grande variedade de microorganismos em mulheres, que se modificam durante o processo fisiológico normal de amadurecimento da mulher. Quando há um desequilíbrio da microbiota vaginal, pode ocorrer o predomínio de determinada flora em detrimento de outra, fazendo com que essas mulheres passem a apresentar um quadro de vaginite infecciosa. Objetivo: Avaliar a prevalência desta patologia em mulheres na faixa etária de até 14 anos, 15 a 34 anos, 35 a 49 anos e de 50 a maior de 64 anos, em 47.358 laudos realizados no Lacen-Pi de . jan de 2003 a set de 2004. Método: Estudo de laudos citológicos retrospectivo, com posterior análise dos dados obtidos. Resultados: Observou-se uma variação de casos positivos para o fungo *Candida sp* com (10,27%), a bactéria *G. vaginalis* (5,09%), o protozoário *Trichomonas sp* (3,66%), e de Lactobacilos (1,42%). Conclusão: A ocorrência de *Candida sp* é elevada em todas as faixas etárias, destacando esta vaginite como a mais habitual queixa de infecção do trato genital feminino, na população estudada.

PALAVRAS-CHAVE - 1 - Saúde Pública, 2 - Citologia Clínica, 3 - Vaginite.

SUMMARY - The normal vaginal flora is constituted by a great variety of microorganisms in women, who if modify during the maturation and the hormonal alterations. When it has a disequilibrium of microbiota vaginal, can even though occur the flora predominance definitive in detriment of another, making with that these women start to present a bacterial picture of infection vaginitis. Objective: To evaluate the prevalence of this pathology in women in the etaria zone of up to 14 years, the 15 at 34 years, the 35 at 49 years and of 50 the greater of 64 years, in 47.358 findings carried through in the Lacen-Pi of . jan of 2003 set of 2004. Method: Study of citological findings with a later analysis of the data obtained. Results: A variation of positive cases for fungus *Candida sp* was observed with (10,27%), bacterial *G. vaginalis* (5,09%), the protozoario *Trichomonas sp* (3,66%) of Lactobacilos (1,42%). Conclusion: The occurrence of *Candida sp* is raised in all the etarias zone, detaching vaginitis as the most habitual infection of the feminine genital treatment, studied population.

KEYWORDS - 1 - Public Health, 2 - Clinical Cytology, 3 - Vaginitis.

INTRODUÇÃO

São três os principais tipos de vaginites infecciosas: vaginose bacteriana, candidíase e tricomoníase, sendo estes processos inflamatórios os que mais acometem os órgãos genitais femininos e atingem entre 15% e 20% as mulheres americanas(EUA), de acordo com (Sobel1998). A vaginose bacteriana é considerada, atualmente, a infecção vaginal de maior prevalência em mulheres em idade reprodutiva e sexualmente ativas. Juntamente com a Candidíase e a Tricomoníase correspondem a 90% dos casos de infecções vaginais, sendo que a Vaginose Bacteriana ocorre em 35-50% dos casos, enquanto a Candidíase ocorre em 20-40% e a Tricomoníase em 10-30%. Foi originalmente descrita por (Gardner e Dukes, 1955), como uma vaginite não específica caracterizada por secreção vaginal acinzentada, de odor fétido, com pH mais elevado que o normal, e com mínima inflamação local, tendo como agente causal a *Gardnerella vaginalis*.

O mecanismo fisiológico de defesa do trato genital feminino mais importante contra a vaginites é a microbiota láctica, caracterizada pela presença de lactobacilos (bacilos de Döderlein), que constituem um grupo heterogêneo de bactérias encontradas nas secreções cérvico-vaginais e, na sua maioria, correspondem a *Lactobacillus acidophilus*. Os lactobacilos são responsáveis pela hidrólise do glicogênio presente nas células epiteliais pavimentosas descamadas, pro-

duzindo ácido láctico, que diminui o pH vaginal para 4,0. Acidificando o pH vaginal, os lactobacilos inibem o crescimento de outros microorganismos.

Spinillo (1997), descreve fatores de risco potenciais para candidíase vulvovaginal, embora não haja consenso na literatura; entretanto, o uso de antibióticos, contraceptivos orais, a presença de diabetes mellitos, gravidez, obesidade, uso de roupas justas (jeans), absorventes e deficiências imunológicas específicas e regiões com clima quente, propiciam a infecção.

MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação foi realizada por meio de um estudo descritivo retrospectivo em 47.358 laudos citológicos, coletados na Coordenação de Citopatologia na cidade de Teresina e em outros municípios do estado do Piauí, no período de janeiro de 2003 a setembro de 2004. As amostras foram coletadas por ginecologistas e enfermeiras, com kits de coleta contendo espéculo, escova para coleta do material endocervical, espátula de Ayres e lâmina, bem como o preenchimento da requisição de encaminhamento para o Laboratório, com os dados pessoais e clínicos.

Como critérios de exclusão, foram adotados os seguintes: não estar fazendo uso de antibióticos, não estar no período menstrual, estar em abstinência sexual de 48 horas, não fazer uso de substâncias de qualquer tipo na região vaginal

Recebido em 21/02/2006

Aprovado em 29/09/2006

*Trabalho realizado no Laboratório Central do Estado do Piauí/LACEN-PI

¹Prof. Adjunto. da disc. de Microbiologia e Imunologia da UFPI, Diretor do Lacen-PI. e Especialista em Citologia Clínica e-mail: evaldohipolito@superig.com.br

²Prof. Assistente II da disc. de Citologia Clínica e Hematologia Clínica da UFPI e Coord. do curso de Farmácia/UFPI e-mail: lefs@ufpi.br

em, ao menos, 2 dias antes do exame, como critérios de participação do estudo.

No processo de revisão dos laudos, foram identificadas as seguintes variáveis: idade das pacientes, avaliação da amostra (adequabilidade) e diagnóstico citológico. Estes dados foram agrupados nas faixas etárias de até 14 anos, 15 a 34 anos, 35 a 49 anos e de 50 a maior de 64 anos, onde, os quais, foram computados em conformidade com a descrição do formulário de resultado do exame citológico fornecido pelo Ministério da Saúde. A análise estatística foi feita através do teste do qui-quadrado (Mantel-Haentzel) com nível de significância de 5% ($p = 0,05$).

RESULTADOS

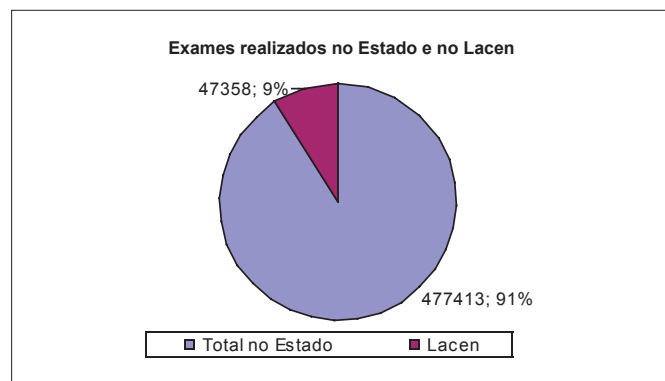


Gráfico 1 – Distribuição dos exames no Estado e no Lacen de jan 2003 a set 2004

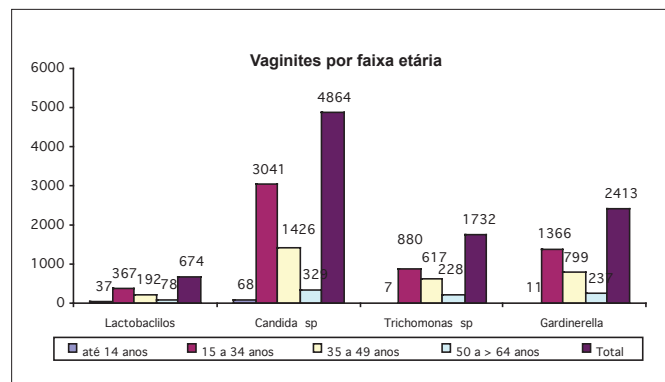


Gráfico 2 – Distribuição dos exames, com diagnóstico de *Lactobacilos*, *Candida sp*, *Trichomonas sp* e *Gardinerella vaginalis* por faixa etária no Lacen nas de jan 2003 a set 2004.

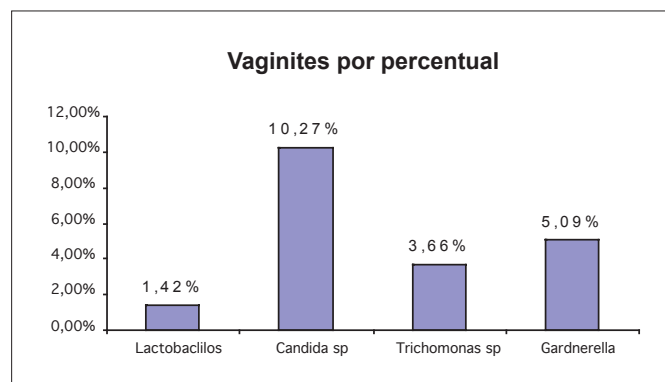


Gráfico 3 - Distribuição das vaginites por percentual nos exames do período

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Dos 477.413 laudos realizados em todo o Estado do Piauí, de janeiro de 2003 a setembro de 2004, parte significativa, 47.358 laudos ou 9,91% foram realizados no Lacen-PI, (gráfico 1). No gráfico 3, observou-se a presença de: *Lactobacilos* (1,42%), *Candida sp* (10,27%), *Trichomonas sp* (3,66%) e *Gardinerella vaginalis* (5,09%).

Nas mulheres sexualmente ativas, nas faixas etárias onde a ocorrência de lactobacilos está reduzida, surge a flora de *Candida sp*, *G. vaginalis* e *Trichomonas sp*, provocando o surgimento da vaginite. Em trabalho realizado por (Silva et al, 2004), no município de Presidente Dutra, estado do Maranhão, foram encontrados os seguintes percentuais: para *G. vaginalis* (13,75%), *Candida sp* (7,74%) e *Trichomonas sp* (5,31%); rastreando o câncer de colo uterino em índias do Parque Indígena do Xingu/Brasil, (Taborda, 2000), encontrou os seguintes dados: *G. vaginalis* (14%), *Trichomonas sp* (13%) e *Candida sp* (1%). No gráfico 3, foi observada uma maior frequência de *Candida sp* (10,27%) em detrimento da *Gardinerella vaginalis* (5,09%), embora o achado de maior frequência, também encontrado por vários autores, seja a *Gardinerella sp*; o maior achado de *Candida sp*, no presente trabalho, corrobora com (Cavalcante, 2005), quando diz que dependendo da faixa etária, localização geográfica e nível sócio-econômico, mais de 40% das mulheres podem apresentar uma ou mais espécies de candida, como constituinte da flora normal, sem apresentar sintomas; em relato anterior, (Motta, 2001) diz ser a *Candida sp* e o *Trichomonas sp* tradicionalmente agentes associados às vaginites.

O microbiologista (Hurley, 1981) propõe que a *Candida sp* possa ser encontrada na vagina, sem causar sintomas, fazendo parte da sua flora normal. No entanto, estudo clínico feito em 1973, no Reino Unido, demonstrou que a presença de *Candida albicans* na vagina coincidiu com 84% de casos de vaginites, (Carroll, 1973).

A respeito do diagnóstico, Sobel, (1998) afirma que o autodiagnóstico e o diagnóstico por médicos sem confirmação laboratorial são inseguros, e a automedicação adotada pelos consumidores sem preocupação com os potenciais efeitos do uso abusivo, ser muito arriscado.

Assim, conclui-se que o principal mecanismo fisiológico de defesa do trato genital feminino contra as vaginites infecciosas é a flora láctica, caracterizada pela presença de lactobacilos, como também, este trabalho evidencia a necessidade de otimização do diagnóstico laboratorial destas patologias, como meio de evitar lesões e agressões ao colo uterino, bem como, o risco do emprego indiscriminado de antibióticos e anti-micóticos por clínicos e consumidores.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho tornou-se possível graças ao apoio dos médicos e enfermeiras responsáveis pela coleta das amostras clínicas, do corpo de funcionários do Lacen/Coordenação de Citopatologia e, em especial, ao médico Dr. João Batista da Silva e Dagmar. Os agradecimentos se estendem também, a todas as mulheres do Estado do Piauí, incluídas no presente estudo.

REFERÊNCIAS

- AYRES, M. , AYRES JÚNIOR, M. , AYRES, D. L. E SANTOS A. S. Bio Estat 3.0 – Aplicações Estatísticas nas Áreas de Ciências Biológicas e Médicas. Sociedade Civil Mamirauá/MCT-CNPQ, Belém-PA, 2003. 290 p.

2. CARROLL, C.J., HURLEY R, STANLEY VC. Criteria for diagnosis of candida vulvovaginitis in pregnant women. J Obstet Gynaecol Br Commonw 1973; 80:258-63.
3. CAVALCANTE, V. L. N., MIRANDA, A.T., PORTUGA, G. M. P. Rastreamento de candidose vaginal durante a prevenção do câncer cérvico-uterino. DST – J bras Doenças Sex Transm 17(1): 44-48, 2005.
4. GARDNER HL, DUKES CD. Haemophilus vaginalis vaginitis: a newly defined specific infection previously classified as non-specific vaginitis. Am J Obstet Gynecol 1955; 69:962-76.
5. HURLEY, R. Recurrent Candida infection. Clin Obstet Gynaecol 1981; 8:209-14.
6. MOTTA, E.V. DA, FONSECA, A.M. DA, BAGNOLI, V.R. et al. Colpocytology in a preventive gynecological ambulatory. Rev. Assoc. Med. Bras., Oct./Dec. 2001, vol.47, no.4, p.302-310.
7. PEREIRA, J.C.R. Análise de dados qualitativos: Estratégias metodológicas para as Ciências da Saúde, Humanas e Sociais. 3 ed. São Paulo: Edusp, 2001.
8. RADDI, M.S.G.; VIDAL, A.F.L.; MARTINS, M.C.D.; LORENCETTI, N.C. Métodos para diagnóstico das vaginites. F. med. (BR), 101(4):243-8, 1990.
9. RASO, P. & TAFURI, W.L. Gardnerella vaginalis: sua frequência em 100.000 exames citológicos cérvico-vaginais em Belo Horizonte – Minas Gerais. J. bras. ginecol., 102(5):173-7, 1992.
10. SILVA, L. M; RIBEIRO, M. H. A; BEZERRA, GEUSA, F. B. et al. Tricomônia: análise citológica da doença em um Município do Estado do Maranhão; NewsLab: A Revista do Laboratório Moderno., out/nov. 2004, ano XII, no.66, p.94 a 105. ISSN 0104-8384.
11. SOBEL, JD, FARO S, FORCE RW, et al. Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. Am J Obstet Gynecol 1998; 178:203-11.
12. SPINILLO, A. CAPUZZO E, GULMINETTI R, MARONE P, COLONNA L, PI-AZZI G. Prevalence of and risk factors for fungal vaginitis caused by non-albicans species. Am J Obstet Gynecol 1997; 176:138-41.
13. TABORDA, W. C., FERREIRA, S. C., RODRIGUES, D., et al. Rastreamento do câncer de colo uterino em índias do Parque Indígena do Xingu, Brasil central. Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health 7(2), 2000.
14. TAFURI, W.L. & RASO, P. Ocorrência de Trichomonas vaginalis em 100.000 exames citopatológicos cérvico-vaginais diagnosticados entre os anos de 1984 à 1989 diagnosticados em Belo Horizonte, Minas Gerais. J. bras. ginecol., 101(11 e 12):519-22, 1991.
15. VILAR, M.L.L.; SANTOS, M.A.; MACIEL, G.M.F.L.; MEIRELES, T.E.F.; SANTO, L.H.; CABRAL, M.E.F. Levantamento epidemiológico das DST no Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário Prof. Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará. An. bras. dermatol., 63(4):359-65, 1988.
16. WANDERLEY, M. DA S., MIRANDA, C. R. R., FREITAS, M. J. C. et al. Vaginose Bacteriana em Mulheres com Infertilidade e em Menopausadas. Rev. Bras. Ginecol. Obstet., nov./dez. 2001, vol.23, no.10, p.641-646. ISSN 0100-7203.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Evaldo Hipólito de Oliveira
Rua João Emílio Falcão nº 551
Bairro de Fátima, Teresina-PI
CEP: 64.049-480

Leonardo Ferreira Soares
Universidade Federal do Piauí – Campus Ininga
Curso de Farmácia SG12
Teresina-Piauí
CEP64001-970

34º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 7º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

10 a 14 de junho de 2007

Local:
Centro de Convenções - EXPOMINAS
Belo Horizonte - MG



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 (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 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

Diagnóstico laboratorial da infecção por toxoplasma Gondii na gestação

Diagnosis laboratorial of the infection for toxoplasma Gondii in the gestation

Mário Ferreira¹, Melissa Cristina Morteau Bicheri², Michele Bertanha Nunes³ & Cilene Carmen Munhoz Ferreira⁴

RESUMO - A toxoplasmose, zoonose de distribuição universal, tem especial importância quando acomete gestantes, uma vez que a transmissão placentária pode provocar lesões de localização e gravidade variadas no feto.

Foram pesquisados anticorpos IgM e IgG em 305 gestantes de Bernardino de Campos, SP. A prevalência de infecção pregressa na população estudada foi de 65,58%, toxoplasmose aguda foi diagnosticada em 5,84% dos pacientes estudados e 28,57% das gestantes apresentaram sorologia negativa, sendo, portanto, suscetíveis de contrair toxoplasmose na gestação.

O estudo reforça a necessidade do acompanhamento sorológico para toxoplasmose no pré-natal.

PALAVRAS-CHAVE - Toxoplasma Gondii, sorologia, gestação.

SUMMARY - Toxoplasmosis, a universally distributed zoonosis, has special importance when attacks pregnant women, since the placental transmission, can cause injuries with varied localization and gravity in the fetus. Antibodies IgM and IgG in 305 pregnant women of Bernardino de Campos, SP, were studied. The predominance of former infection in the studied population was of 65,58%, acute toxoplasmosis was diagnosed in 5,84% of the studied patients and 28.57% of the pregnant women presented negative serology, being susceptible, therefore, to contract toxoplasmosis in the pregnancy. The study reinforces the necessity of serum attendance for toxoplasmosis during the prenatal treatment.

KEYWORDS - Toxoplasma gondii, serology, pregnancy.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose de felídeos causada pelo *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Maneaux, 1908), que, universalmente disseminada, infecta aves e mamíferos.

O contágio se dá, predominantemente, pela ingestão de oocistos eliminados pelas fezes de felídeos, gatos principalmente, que podem permanecer viáveis no solo por longos períodos, resistindo a dessecação e variações de temperatura, o que torna possível a contaminação pela inalação de poeira contaminada. Ocorre, ainda, pelo consumo de alimentos de origem animal, especialmente de carnes mal cozidas, contendo cistos (bradizoitos) do parasito. Quando digeridos, os cistos liberam esporozoítos e taquizoítos, que penetram ativamente nas células dos hospedeiros, reproduzindo-se e disseminando-se rapidamente por via hematogênica para os mais variados tecidos e órgãos. A transmissão pode ocorrer, também, através do transplante de órgãos. A maior importância clínica, entretanto, está na transmissão placentária, com infecção fetal (Camargo ME, 1996).

No homem, o *T. gondii* é, sobretudo, um parasita oportunista. O estado imunitário tem papel decisivo na manifestação clínica da infecção toxoplásmica. No entanto, estudos em parasitas isolados de infecção humana, por análise isoenzimática por PCR, mostram que o genótipo do tipo II (grupos Z2, Z4, e Z8) é o mais frequente na toxoplasmose congênita (Dodé, LM, 1997).

A transmissão placentária do parasito pode ocorrer quando a gestante adquire a primoinfecção. O risco de infecção fetal é dependente da idade gestacional, variando de 17% no primeiro trimestre, 25% no segundo trimestre, para 65% no terceiro trimestre da gestação. Felizmente, a gravidade das lesões fetais é inversamente proporcional à idade gestacional. No primeiro trimestre, as lesões graves são estimadas em 13% dos casos, caindo para 10% no segundo trimestre, e são raras no terceiro trimestre (Desmonts e Couvreur, 1974).

A instituição precoce de terapêutica antiparasitária adequada promove sensível decréscimo na percentagem de fetos com lesões, bem como na gravidade das lesões (Camargo ME, 1996).

O diagnóstico laboratorial da toxoplasmose tem se baseado, principalmente, na pesquisa de anticorpos contra o parasito. Conforme as características imunológicas desses anticorpos, diferentes marcadores sorológicos têm sido descritos para distinguir entre infecção latente, comum na população, e infecção recente. Embora, mais recentemente, a demonstração de componentes como antígenos e segmentos de DNA, em vários materiais biológicos, com alto valor diagnóstico, tenha se tornado possível, o monitoramento das gestantes soro negativas, durante toda gestação, não perdeu sua importância.

A reação de Sabin-Feldman, baseada na neutralização de parasitos vivos, em presença de anticorpos e complemento, foi praticamente abandonada, devido à necessidade de se manipular o parasito em sua forma infectante. Os testes de hemaglutinação indireta, embora ainda utilizados, apresentam limitações, podendo levar a resultados falso-positivos inespecíficos ou de reação cruzada (Tundisi, RN, 1995). A reação de imunofluorescência indireta, teste mais reprodutivo e seguro, que permite as separações das frações IgM, IgA e IgG dos anticorpos anti-toxoplasma e sua titulação, através de diluições crescentes, é atualmente bastante empregada. Entretanto, a pesquisa de anticorpos IgM, por esse método, tem se mostrado pouco sensível, possivelmente devido à competição com as IgG, levando a resultados falso-negativos (Costa, AMM, 1998).

Mais recentemente, os testes imunoenzimáticos, ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) e ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay), têm contribuído para melhorar o diagnóstico da toxoplasmose, uma vez que apresentam maior sensibilidade e especificidade. Mais recentemente ainda, os testes por ELFA-Imunocaptura para IgM e a de-

Recebido em 25/04/2006

Aprovado em 20/09/2006

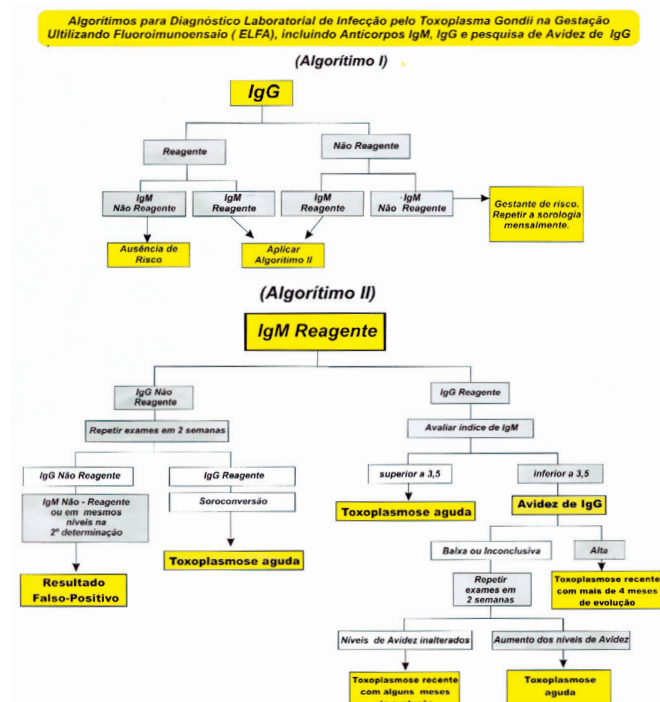
¹Farmacêutico Bioquímico, TEAC pela SBAC, diretor do Laboratório Santa Paula LTDA, Ourinhos/SP.

²Biomédica do Laboratório Santa Paula LTDA.

³Farmacêutica Bioquímica do Laboratório Santa Paula LTDA.

⁴Acadêmica do curso de Farmácia e Bioquímica da Universidade Estadual de Londrina, Pr.

tecção da avidéz de IgG para toxoplasmose têm melhora-
do ainda mais os recursos, para diferenciar toxoplasmose
aguda dos casos de contágio recente com alguns meses de
evolução, como recomendado nos Algoritmos I e II (Perry,
LC, Tessaro, MM; Guedes CR e Reis, MM, 2000).



Outros marcadores têm sido recomendados para os perfis duvidosos, como as dosagens de anticorpos IgA e IgE contra toxoplasmose (Camargo, ME, 1996).

MATERIAL E MÉTODOS

CASUÍSTICA:

Foram analisadas 308 amostras de soro, obtidas de gestantes atendidas na rede básica (Serviço de Pré-natal) do município de Bernardino de Campos, SP, no período de janeiro de 2001 a dezembro de 2002.

METODOLOGIA

As amostras foram submetidas à pesquisa de anticorpos IgM e IgG para toxoplasmose, pela metodologia ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) BIOMÉRIEUX SA, utilizando-se o sistema VIDAS, automatizado, no Laboratório Santa Paula LTDA, em Ourinhos, SP.

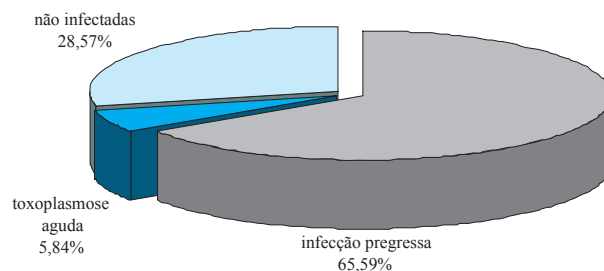
Na metodologia aplicada, as imunoglobulinas M são capturadas por anticorpos policlonais presentes na fase sólida do teste. Anticorpos anti-toxoplasma (anti P30), conjugados à fosfatase alcalina, ligam-se ao complexo antes formado. A ação da enzima no substrato 4-metil-umbeliferil fosfato gera produto fluorescente, cuja fluorescência é medida em 450 nm. O aparelho faz os cálculos automaticamente e libera um índice. Índices inferiores a 0,25 são considerados não reagentes, índices entre 0,55 e 0,65 são considerados indeterminados, e índices iguais ou superiores a 0,65 são considerados reagentes.

Para as pesquisas de anticorpos IgG, empregamos a mesma metodologia, sendo os resultados interpretados da seguinte forma: resultados inferiores a 8,0 UI/mL são considerados não reagentes, entre 8,0 e 9,9 UI/mL são considerados indeterminados, e superiores a 9,9 UI/mL são considerados reagentes.

RESULTADOS

Das 308 amostras analisadas, 202 apresentaram IgM não reagente e IgG reagente (infecção pregressa), 88 apresentaram IgM não reagente e IgG não reagente (não infectadas), e 18 apresentaram IgM e IgG reagentes, sugerindo toxoplasmose aguda, adotados os critérios contidos nos algoritmos I e II.

O gráfico I mostra os resultados em percentuais:



DISCUSSÃO

A toxoplasmose aguda na gestação pode resultar em infecção congênita, podendo provocar no feto lesões de localização e gravidade variadas. O tratamento precoce da gestante infectada reduz substancialmente a transmissão placentária. O maior desafio na toxoplasmose é, portanto, diagnosticar e tratar rapidamente as infecções em gestantes e recém-nascidos.

Em nosso estudo, a prevalência da toxoplasmose (71,42%) está de acordo com outros autores (Camargo, ME, 1996), 50,0 a 80,0%, e (Carmo, ACZ, 2005), 64%.

Nossos dados indicam que 28,57% das gestantes estudadas apresentavam risco de adquirir toxoplasmose durante a gestação. Assim, podemos afirmar que a determinação do perfil sorológico para toxoplasmose nas mulheres em idade fértil e, principalmente, o acompanhamento das gestantes soro negativas possibilita significativa melhora no diagnóstico dos casos agudos, garantindo tratamento em tempo hábil e evitando tratamentos desnecessários.

REFERÊNCIAS

- 1 - Camargo, ME, in : Ferreira, AW, e Ávila, SLM. Diagnóstico Laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes, Guanabara Kogan, 1996, pag.165-174
- 2 - do Carmo, ACZ; BOTTOM, SR; Fleck, J; Beck, ST. Importância do rastreamento pré-concepcional e pré-natal de infecção por T. gondii. Revista Brasileira de Análises Clínicas; vol.37.,2005.pág. 49-52.
- 3 - Tundisi, RN; Bassinello, P; Quarente, RCA; Lago, APS; Vaz, AJ. Diagnóstico Imunológico de Toxoplasmose: estudo comparativo dos testes imunoenzimático e imunofluorescência indireta para pesquisa de anticorpos das classes IgM e IgG. LAES e HAES. n°96 agosto/setembro/1995, pag.130.
- 4 - Costa, AMM;Bonifácio, AC; Santos, RP; Cordeiro, JCS. Dosagem de IgM anti-toxoplasma por IFI e ELFA em títulos elevados de IgG. News Lab, ano VI, n°28, pag.78-81, 1998.
- 5 - Camargo ME. Diagnóstico de Laboratório de Toxoplasmose Humana. Rev. Bras.Anal. Clínicas, 21(1). pag. 3-11, 1989.
- 6 - Dardé, ML. Tipagem das Cepas de Toxoplasmas na epidemiologia da Toxoplasmose. News Lab ano V, n° 23, pag. 180-192, 1997.
- 7 - Camargo, ME. Resultados do teste VIDAS toxo IgM como marcador de toxoplasmose recente, LAES e HAES; pag. 35-36, 1993.
- 8 - Perry, LC; Tessaro, MM; Guedes, CR; Reis, MM - News Lab, pag. 114-120, 2000. Análise dos resultados da sorologia para toxoplasmose em gestantes, utilizando a pesquisa de anticorpos específicos Enzima Linked Fluorescent Assay.
- 9 - Jenum, P; Stray-Petersen, Gundersen, A. Improved diagnosis of primary Toxoplasma Gondii infection in early pregnancy by determination of antitoxoplasma immunoglobulin; Gravidty Journal of Clinical Microbiology, v.35, n° 8, pag. 1972-1977, 1997.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Mário Ferreira- Laboratório Santa Paula Ltda
Rua Ari Barroso, 403
CEP: 19900-300 , Ourinhos, SP. Brasil

Prevalência de enteroparasitoses em reeducandos da Penitenciária “Maurício Henrique Guimarães Pereira” de Presidente Venceslau – SP

Enteroparasitic prevalence in prisoner of the Penitentiary “Maurício Henrique Guimarães Pereira” of Presidente Venceslau – SP

Ricardo de Souza Abraham^{1*}, Nair Toshiko Tashima² & Maria Aparecida da Silva³

RESUMO - As infecções parasitárias representam importante problema de saúde pública em nosso meio por serem de elevada prevalência e pelos custos sócio- econômicos que acarretam. Nas últimas décadas, têm sido observadas ligeiras reduções nas taxas globais de diferentes infecções parasitárias mas, em contrapartida, observa-se um sensível aumento do número absoluto de casos. As enteroparasitoses podem afetar o equilíbrio nutricional interferindo na absorção de nutrientes, induzindo sangramento intestinal, reduzindo a ingesta alimentar e também causar complicações significativas tais como obstrução intestinal, prolapso retal e formação de abscessos. A prevalência das enteroparasitoses, de uma forma geral, figura em regiões menos desenvolvidas, principalmente, em locais onde existe aglomerados de pessoas, tais como: creches, orfanatos, presídios, etc. Este trabalho, ainda não concluído, tem como objetivo avaliar os índices de prevalência das enteroparasitoses dos reeducandos da Penitenciária Maurício Henrique Guimarães Pereira de Presidente Venceslau - SP. Das amostras analisadas, observou-se que 66,7% dos reeducandos não apresentaram nenhum parasito e 33,3 % apresentaram parasitos. O parasito mais freqüente foi *Endolimax nana* (9,7%), seguido de *Ancilostomídeo* (5,4%). *Giardia lamblia* e *Strongyloides stercoralis* apresentaram uma prevalência de 3,2%. A associação *Entamoeba coli* / *Endolimax nana* também apresentou uma prevalência de 3,2%. Concluímos que o enteroparasito com alta patogenicidade mais prevalente foi o *Ancilostomídeo*.

PALAVRAS-CHAVE - reeducandos, enteroparasitoses, prevalência.

SUMMARY - The parasitic infections represent important problem of public health in our middle for being of elevated prevalence and by the partner costs- economic that carry. In the last decades, they have been being observed slight reductions in the global rates of different parasitic infections, but as opposed a sensitive increase of the absolute number of cases is observed. Enteroparasitic can affect the balance nutritional interfering in the nutrients absorption, inducing intestine's bloody, reducing for to swallow feed and also cause significant complications such as intestinal obstruction, rectal prolapse and abscesses formation. The prevalence of enteroparasitic, in a way general, illustration in less developed regions, mostly in locations where there is people's agglomerates such as nurseries, orphanages, prisons, etc. This work, revealed, has as goal evaluate the prevalence indices of enteroparasitic of prisoner of the Penitentiary Maurício Henrique Guimarães Pereira of Presidente Venceslau - SP. Of the analyzed samples, observed- if that 66,7% of prisoner did not introduce any parasite and 33,3 % introduced parasites. the most frequent parasite was *Endolimax nana* (9,7%), followed by *Ancilostomídeo* (5,4%). *Giardia lamblia* and *Strongyloides stercoralis* introduced a prevalence of 3,2%. The association *Entamoeba coli* / *Endolimax nana* detected a prevalence of 3,2%. We conclude that enteroparasitic with high pathogenicity more prevalent was *Ancilostomídeo*.

KEYWORDS - prisoner, enteroparasitic, prevalence

INTRODUÇÃO

As enteroparasitoses são problemas de saúde pública grave que ainda persistem nos países em desenvolvimento. O problema envolvendo as parasitoses intestinais no Brasil é mais sério do que se apresenta, uma vez que lamentavelmente há falta de uma política de educação sanitária profunda e séria. A erradicação desses parasitos requer melhoria das condições no saneamento básico e na educação sanitária, além de mudanças em certos hábitos culturais (Dias e Grandini, 1999).

Em decorrência dos efeitos deletérios à saúde dos indivíduos e, sobretudo, das repercussões econômicas, vários programas têm sido dirigidos para o controle das parasitoses intestinais em diferentes países mas, infelizmente constata-se um descompasso entre o êxito alcançado nos países mais desenvolvidos e aquele verificado nas economias mais pobres. Além do aspecto financeiro das medidas técnicas, a falta de projetos educativos com a participação da

comunidade dificulta a implementação das ações de controle. Há que se considerar, portanto, que além da melhoria das condições sócio-econômicas e de infra-estrutura geral, o engajamento comunitário é um dos aspectos fundamentais para implantação, desenvolvimento e sucesso dos programas de controle (Ludwing, *et. al*, 1999).

Está bem estabelecido que as parasitoses intestinais são mais freqüentes em regiões menos desenvolvidas, considerado o sentido mais amplo da palavra. Nos países subdesenvolvidos as parasitoses intestinais atingem índices de até 90%, ocorrendo um aumento significativo da freqüência à medida que piora o nível sócio-econômico. Pesquisas populacionais sobre parasitoses intestinais foram realizadas em diversas regiões do Brasil e mostraram freqüências bastante diferentes, de acordo com as condições locais de saneamento e característica da amostra analisada (Ludwing, *et. al*, 1999).

Quanto à freqüência de enteroparasitoses observada em diferentes faixas etárias, verifica-se que na faixa etária de

Recebido em 18/04/2006

Aprovado em 20/09/2006

*Parte do Trabalho de Conclusão de Curso do primeiro autor, apresentado a Faculdade de Ciências da Saúde da UNOESTE – Presidente Prudente em julho de 2005.

¹Universidade do Oeste Paulista – Presidente Prudente. Rua Capitão Shakespeare, 190 – Jd. Esperança – Presidente Venceslau – SP

ricardo.abraham@itelefonica.com.br

²Universidade do Oeste Paulista – Presidente Prudente. Rua José Alfredo da Silva, 1332 – Jd. Paulista CEP: 19023-210 – Presidente Prudente – SP

ntashima@muranet.com.br

³Universidade do Oeste Paulista – Presidente Prudente. Avenida Paulo Marcondes, 649, Bloco 3, Apto 202 – Pq. Bandeirantes. CEP: 19025-000 – Presidente Prudente – SP - m.a.s@stetnet.com.br

3 a 6 anos encontram-se as freqüências mais elevadas. Na faixa de 6 a 9 anos a incidência contínua elevada, porém com tendência ao decréscimo que se mantém com o aumento da faixa etária, verificando-se freqüências relativamente baixas para maiores de 18 anos. Para todas as faixas etárias as enteroparasitoses mais encontradas foram *Giardia intestinalis*, *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* (Ludwing, *et. al*, 1999).

A oportunidade de infecção por um ou vários parasitas intestinais é universal, devido à disseminação desses agentes e a facilidade com que são transmitidos (ingestão de água e alimentos contaminados com cistos e ovos, penetração de larvas pela pele e mucosas). Em determinadas circunstâncias, contudo, as evidências epidemiológicas permitem presumir, com elevado grau de certeza o agente etiológico da infecção. Isto ocorre, em geral, quando a oportunidade de infecção é presumível fora do contexto de exposição habitual do indivíduo (Ludwing, *et. al*, 1999).

As enteroparasitoses podem afetar o equilíbrio nutricional interferindo na absorção de nutrientes, induzindo o sangramento intestinal, reduzindo a ingestão alimentar e também causando complicações significativas como obstrução intestinal, prolapso retal e formação de abscessos (Rezende, Costa-Cruz e Gennari-Cardoso. 1997).

A magnitude global e a importância das infecções parasitárias e das possíveis medidas para seu controle foi objeto de consideração por um comitê de peritos da OMS. No continente americano, 200 milhões de pessoas estão poliparasitadas, a maioria apenas infectadas. Em 5 a 15% da população observou-se a presença de sintomas devido a helmintos intestinais; cerca de 20 milhões adoecem e mais de 10 mil morrem ao ano por esta causa (Rezende, Costa-Cruz e Gennari-Cardoso. 1997).

Indivíduos assintomáticos que pela natureza de seu trabalho estão em contato direto e permanente com alimentos, podem tornar-se fonte potencial de contaminação e disseminação de vários patógenos, entre eles enteroparasitas. Na América Latina, enteroparasitoses em manipuladores de alimentos foram descritas no Brasil, no Chile e no Panamá (Rezende, Costa-Cruz e Gennari-Cardoso. 1997).

Em Uberlândia, durante o ano de 1988, realizou-se um inquérito coproparasitológico em 1.800 escolares de 20 estabelecimentos de ensino de primeiro grau e em 104 manipuladores de alimentos que se ocupavam da merenda escolar naquelas escolas. O estudo demonstrou a semelhança do perfil de enteroparasitoses entre esses dois grupos, com maior freqüência dos protozoários *Giardia lamblia* e *Entamoeba coli* e maior porcentagem de infecção helmíntica por Ancilostomídeos, *Ascaris lumbricoides*, *Hymenolepis nana* e *Strongyloides stercoralis*. A coincidência observada corrobora a antecipada relação entre a transmissão de enteroparasitas e as condições de vida da população; neste caso, tanto manipuladores de alimentos quanto alunos viviam em condições semelhantes, com domicílio próximo à escola (Rezende, Costa-Cruz e Gennari-Cardoso. 1997).

Segundo Ramos Jr. (apud ALVES *et.al.*, 2003), no sudeste piauiense, pouco se conhece sobre a prevalência das parasitoses intestinais. Em estudos coprológicos preliminares, realizados em pequenos povoados do interior do Parque Nacional Serra da Capivara, nos anos de 1984 e 1986, notou-se a ausência de *Ascaris lumbricoides* e de *Trichuris trichiura* em 485 pessoas examinadas (dados não publicados). Mais recentemente, em município limítrofe ao norte do Parque, não foram encontrados ovos de *A. lumbricoides*, apesar da ocorrência de protozoários em 2 a 25% e de

helmintos em 0 a 2% das amostras examinadas. Foi feito o diagnóstico de tricuriase em apenas duas crianças, ambas recém chegadas de outros Estados.

A ascariíase, a ancilostomíase e a tricuriase representam as parasitoses intestinais mais freqüentes no país (Rey, 2001). Na década de 70, o inquérito realizado pela Superintendência de Campanhas de Saúde Pública/Ministério da Saúde (SUCAM) em 21 Estados, mostrou que *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* apresentaram as maiores freqüências relativas, 52,6% e 36,6%, respectivamente (SUCAM, 1973). Em 1950, um estudo mostrou que o Piauí apresentava, dentre os Estados estudados, o maior índice de infecção por ancilostomídeos (68,8%) e terceiro maior por *Ascaris lumbricoides* (88,0%) (Pellon & Teixeira, 1950). Em recente estudo no Município de Parnaíba, região litorânea do Piauí, *Ascaris lumbricoides* (64,9%), ancilostomídeos (16,5%), *Entamoeba coli* (43,3%) e *Entamoeba histolytica/dispar* (23,4%) foram os parasitos mais freqüentes (Oliveira *et al.*, 2001 apud Alves, *et al.*, 2003).

Quando observada apenas a população infantil, as variações quanto à distribuição entre as faixas etárias é um fato bastante interessante, pois se sabe que crianças em idade pré-escolar são as mais acometidas por parasitoses. Além dos efeitos patológicos diretos destes parasitos sobre a saúde, as infecções helmínticas exercem importante influência sobre o estado nutricional, crescimento e função cognitiva de escolares em países subdesenvolvidos. Apesar das baixas taxas de mortalidade, as enteroparasitoses ainda continuam representando um sério problema de saúde pública frente ao grande número de pessoas parasitadas e aos problemas orgânicos que podem provocar, inclusive sobre o estado nutricional (Saturnino, Nunes e Silva. 2003).

A diarreia causada por parasitas intestinais constitui uma das causas de disfunção em crianças menores de seis anos de idade e que contribui consideravelmente com as altas taxas de má nutrição, constituindo um problema médico-sanitário de grande importância dentro da saúde pública, especialmente na região Nordeste do Brasil, uma vez que ocorrem com freqüência e toma dimensões preponderantes, que concorrem para o bloqueio do desenvolvimento físico e mental dessas crianças (Saturnino, Nunes e Silva. 2003).

A infecção por *Giardia lamblia* assume um papel de significativa importância em crianças de grupos etários de baixa idade e/ou subnutridas, reportados por diversos estudos já realizados, tanto pela sua ação espoliativa quanto por outros aspectos de sua patogenia, com a possibilidade de até prejudicar a absorção intestinal (Saturnino, Nunes e Silva. 2003).

A freqüência de parasitoses intestinais em nosso país é sabidamente elevada, assim como nos demais países em desenvolvimento, sofrendo variações quanto à região de cada país e quanto às condições de saneamento básico, ao nível sócio-econômico, ao grau de escolaridade, à idade e aos hábitos de higiene dos indivíduos que nela habitam, entre outras variáveis. A influência de outros fatores na determinação de parasitos intestinais, como, por exemplo, o sexo do indivíduo e o contato com animais domésticos, não estão totalmente estabelecidos. A freqüência de giardiase sofre variações quanto à distribuição mundial. Nos países desenvolvidos, a taxa é relativamente baixa, e o aumento destas taxas deve-se a surtos que não configuram um problema crônico com freqüências constantemente elevadas. Já, em países em desenvolvimento, sabe-se que a freqüência é muito maior (Machado *et. al*. 1999).

Gioia relata freqüência de 4,5% de giardiase na população de uma unidade básica de saúde em Campinas (SP), entre

os anos de 1986 e 1990. Quando se considera apenas a população pediátrica, as variações são interessantes quanto à distribuição entre as faixas etárias. Sabe-se que crianças em idade pré-escolar são mais acometidas por giardíase. Cardoso et al encontraram taxas de giardíase de até 63,3% em creches de Aracaju (SE); Guimarães et al também detectaram taxas de 63,3% em creches de Botucatu (SP). Outros autores demonstraram taxas menores em crianças de idade escolar. A helmintíase difere da giardíase no que se refere a sua frequência e distribuição na população (Machado et al. 1999).

De acordo com a OMS, de cada quatro habitantes do planeta, um está parasitado por algum tipo de helminto. Dentre estes parasitos, chamam a atenção o *Ascaris lumbricoides* e o *Trichuris trichiura* como vermes de elevada frequência na população pediátrica (Machado et al. 1999). Nas últimas décadas, têm sido observadas ligeiras reduções nas taxas globais de prevalência de diferentes infecções parasitárias, mas, em contrapartida, observa-se um sensível aumento do número absoluto de casos. Estimativas recentes indicam que somente *Ascaris lumbricoides* aflige cerca de 1/4 da população mundial, distribuindo-se por mais de 150 países e territórios. Neste contexto, as parasitoses intestinais ou enteroparasitoses são responsáveis por altos índices de morbidade, principalmente nos países em desenvolvimento, onde o crescimento populacional não é acompanhado da melhoria das condições de vida da população. No Brasil, as enteroparasitoses figuram entre os principais problemas de saúde pública; e, no entanto, a investigação parasitológica tem sido amplamente negligenciada no país (Ferreira e Junior.1997).

As parasitoses intestinais são universalmente distribuídas na Amazônia brasileira, como no país como um todo. Entretanto, apresentam variações inter e intra-regionais, dependendo dos seguintes fatores: constituição do solo, índice de aglomeração da população e de suas condições econômicas, sociais, sanitárias e educacionais, presença de animais no peridomicílio, condições de uso e contaminação do solo, da água e dos alimentos e da capacidade de evolução das larvas e ovos dos helmintos e de cistos de protozoários em cada um desses ambientes (Boia et al. 1999). As enfermidades parasitárias são apontadas como indicadores de desenvolvimento socioeconômico de um país, e um freqüente problema de saúde pública, afetando principalmente indivíduos jovens, desencadeando, além de problemas gastrintestinais, baixo rendimento corporal e conseqüente atraso no desenvolvimento escolar. Embora não sejam medidos esforços por parte dos órgãos de saúde mundial para controlar estas enfermidades, não tem ocorrido uma redução nestes índices, considerando principalmente as famílias de baixa renda, cuja condição de vida precária, má higiene e nutrição, contribuem ainda para a propagação das enfermidades parasitárias (Quadros et al. 2004).

OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo estudar a prevalência de enteroparasitoses em reeducandos da Penitenciária "Maurício Henrique Guimarães Pereira de Presidente Venceslau – SP"

MATERIAIS E MÉTODOS

Local de Estudo

Os materiais foram coletados na Penitenciária "Maurício Henrique Guimarães Pereira", de Presidente Venceslau –

SP, localizada na Rodovia Raposo Tavares, km 623, com a devida autorização do Diretor Geral.

Presidente Venceslau está localizada no Pontal do Paranapanema, a 620 km ao oeste da Capital São Paulo. A rede rodoviária faz ligação importante servindo de corredor de acesso entre Estado como Mato Grosso, Paraná a grandes centros como São Paulo.

A Penitenciária possui uma população de 802 reeducandos do sexo masculino.

Exames

Os exames coproparasitológico de fezes foram realizados no Laboratório de Parasitologia Clínica da UNOESTE. Foram colhidas amostras de fezes de 93 reeducandos da Penitenciária "Maurício Henrique Guimarães Pereira" que aceitaram fazer os exames, autorizando assim, através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foram realizados os métodos de Faust, desenvolvido para o diagnóstico de cistos de protozoários e de ovos leves de helmintos (Carli, 1994) e Hoffmann, desenvolvido para pesquisa de ovos pesados de helmintos (Moura, 1987) e também Rugai, que foi desenvolvido para detectar larvas de helmintos (Vallada, 1988). Os exames foram realizados por dois profissionais treinados.

Os dados foram introduzidos no programa EPIINFO 6 (Versão 6.04b), sendo elaborado um banco de dados que permitiu que os dados coletados fossem imediatamente digitados, de forma a favorecer a sua análise. Na seqüência, foram obtidos os dados das variáveis em estudo.

RESULTADOS

A Penitenciária "Maurício Henrique Guimarães Pereira" de Presidente Venceslau – SP tem uma população de 802 reeducandos do sexo masculino, sendo que, para colheita de material, foram escolhidos 250 reeducandos que exercem atividades internas, onde destes, somente 93 reeducandos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e colheram o material.

Na tabela 1, observa-se que das amostras coletadas 66,7% dos reeducandos não apresentaram nenhum parasita e 33,3% apresentaram algum tipo de parasita.

O protozoário mais prevalente foi *Endolimax nana*, como mostra a tabela 2. O protozoário patogênico mais encontrado foi a *Giardia lamblia*, presente em 5 reeducandos.

Os demais parasitas foram encontrados em 3 ou 2 reeducandos.

A associação mais freqüente foi constituída de protozoários comensais (*Entamoeba coli* / *Endolimax nana*) presentes em dois reeducandos. O poliparasitismo também foi observado nesta população sendo encontrado em dois ou um reeducandos.

O helminto mais prevalente foi o Ancilostomídeo, presente em 5 reeducandos, seguido de *Strongyloides stercoralis* presentes em 3 reeducandos.

TABELA I
Distribuição de frequência quanto à presença e ausência de parasitas dos reeducandos.
Presidente Venceslau – SP, 2005

Causa Atribuída	Frequência	%
Ausência de parasitas	62	66,7
Presença de parasitas	31	33,3
Total	93	100%

TABELA II
Espécies de parasitas encontrados em portadores de
parasitismo em reeducandos.
Presidente Venceslau – SP. 2005

Parasitas encontrados	Frequência	%
EN	9	29,03
Anc	5	16,13
GL	3	9,68
SS	3	9,68
EC/EN	3	9,68
EN/HN/TT	2	6,45
GL/EC/EH/TT/AL	2	6,45
IB	1	3,23
EN/EC/TT/AL	1	3,23
GL/EN/EC/EH	1	3,23
EH/EN/EC/TT	1	3,23
Total	31	100%

Fonte: Unoeste - Presidente Prudente - SP - 2002

DISCUSSÃO

Dos parasitos mais prevalentes, *Endolimax nana* foi o mais citado. Sabe-se que esse protozoário é comensal mas tem a mesma fonte de infecções que outros protozoários patogênicos. Dos parasitos patogênicos, o mais prevalente foi o Ancilostomídeo, seguido de *Strongyloides stercoralis* que tem contaminação transcutânea. Observou-se que a maioria dos reeducandos andam descalços nos momentos de lazer e quando trabalham na horta. Esse fato, provavelmente, pode explicar a prevalência alta destes helmintos que penetram através da pele.

O protozoário patogênico mais freqüente foi a *Giardia lamblia*, sendo, este, mais freqüente onde existem aglomerados de pessoas, sendo freqüente a transmissão oral (Neves, 1995). Os casos de poliparasitismo são muito raros de ocorrer e neste trabalho verificamos a presença de poliparasitismo em vários reeducandos. Observou-se que necessitam de orientação profiláticas, tanto do ambiente físico como de educação sanitária.

O uso de calçados também é um fator a ser estudado e orientado no sentido de diminuir a prevalência de parasitos que são transmitidos pela pele.

Chieffi *et. al.* (1988) descrevem uma queda de prevalência de infecção por Ancilostomídeo, corroborando para a tendência de queda na freqüência de infecção por Ancilostomídeo no estado de São Paulo na ultimas décadas, provavelmente em consequência de processos de urbanização e das melhorias das condições gerais de vida da população. O nosso trabalho vai de encontro com os trabalhos de outros autores, visto que a população carcerária é uma população diferente, vivendo em ambientes fechados e pouca educação sanitária.

É inegável o papel que desempenha o solo na propagação das verminoses, especialmente, no caso do *Strongyloides stercoralis* e dos Ancilostomídeos, quando há contato com a terra, correlacionados ao uso de calçados e hábitos da defecação peridomiciliar (Vallada e Carraro, 1985).

Observou-se que a população estudada anda descalça pelos corredores das dependências, muitas vezes praticam esportes descalços e trabalham na horta, embora sejam oferecidos calçados a eles.

No trabalho de Ferreira e Marçal Jr. (1997) realizado em um distrito de Uberlândia – MG registrou-se uma prevalência baixa para infecções por *Ascaris lumbricoides* e *Tricuris trichiura* (1,0%) coincidindo com os dados obtidos neste estudo.

A prevalência de enteroprotzoários na população carcerária da penitenciária "Maurício Henrique Guimarães Pereira" de Presidente Venceslau – SP foi de 33,3%.

Giardia lamblia foi o protozoário mais freqüente.

Ancilostomídeo foi o helminto mais freqüente.

A associação mais freqüente foi *Giardia lamblia* / *Entamoeba coli* / *Entamoeba histolytica* / *Tricuris trichiura* / *Ascaris lumbricoides*.

AGRADECIMENTOS

Ao Diretor Técnico de Departamento da Penitenciária "Maurício Henrique Guimarães Pereira" de Presidente Venceslau – SP, Dr. Osny Carlos Screpanti que autorizou que fosse realizado este trabalho de pesquisa na unidade. Ao Coordenador das Unidades Prisionais da Região Oeste do Estado de São Paulo, Dr. Carlos Augusto Panucci, que autorizou a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Jair Rodrigues, MACEDO, Heloísa Werneck, RAMOS Jr., Alberto No-vaes et al. Apresenta: Parasitoses intestinais em região semi-árida do Nordeste do Brasil: resultados preliminares distintos das prevalências esperadas. Cad. Saúde Pública, mar-abr. 2003, vol.19, no.2, p.667-670.
- BOIA, Marcio N., MOTTA, Leonardo P. da, SALAZAR, Maria do Socorro P., MUTIZ, Martha P. Suarez, COUTINHO, Rilza B. A., COURA, J. Estudo das parasitoses intestinais e da infecção chagásica no Município de Novo Airão, Estado do Amazonas, Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, jul-set, 1999, vol.15, no.3, p.497-504.
- CARLI, Geraldo Atilio de. Diagnóstico laboratorial das parasitoses humanas: Métodos e técnicas. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 1994. p.89.
- CHIEFFI, P.P., WALDMAN, E. A., DIAS, R. M. D. S., TORRES, D. M. A. G.V., CHIMARA, R., MIZUMOTO, L. C., SILVA, A. M. A., UEHARA, M., 1988. Enteroparasitoses no município de Guarulhos, SP, Brasil, Prevalência de infecção entre escolares residentes no bairro de Taboão, em junho de 1984. Revista Instituto Adolfo Lutz, v.48, p.75-80
- FERREIRA, Carla Borges e MARÇAL JUNIOR, Oswaldo. Enteroparasitoses em escolares do distrito de Martinésia, Uberlândia, MG um estudo piloto. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical v.30, p.373-377, set-out, 1997.
- LUDWIG, Karin Maria, FREI, Fernando, ALVARES FILHO, Firmino et al. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo. Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, vol.32, no.5, p.547-555. set-out. 1999, Disponível em: www.scielo.br Acesso: 20 set. 2002.
- MACHADO, Renato Carlos, MARCARI, Euzélia Lidubino, CRISTANTE, Siamar de Fátima Vechiato, CARARETO, Cláudia Márcia Aparecida. Apresenta: Giardiase e helmintíases em crianças de creches e escolas de 1º e 2º graus (públicas e privadas) da cidade de Mirassol (SP, Brasil) Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical nov-dez, 1999, vol.32, no.6, p. 697-704.
- MOURA, Roberto de Almeida. Técnicas de laboratório. Rio de Janeiro: Editora Atheneu, 1987. p.421.
- NEVES, David Pereira. Parasitologia Humana. São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais: Editora Atheneu, 1995. p.124.
- QUADROS, Rosileia Marinho, MARQUES, Sandra, ARRUDA, Andréia Aparecida Ribeiro, DELFES, Patrícia Simone Wolff Rosa, Medeiros Iris Aparecida Azevedo, Parasitas intestinais em centros de educação infantil municipal de Lages – SC Brasil. Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical v.37, n.5 Uberaba, set./out. 2004.
- REZENDE, Carlos Henrique A. de, COSTA-CRUZ, Julia Maria e GENNARI-CARDOSO, Margareth L. Enteroparasitoses em manipuladores de alimentos de escolas públicas em Uberlândia (Minas Gerais), Brasil. Rev Panam Salud Publica, Dez. 1997, vol.2, no.6, p.392-397.
- SATURNINO, Ana conceição Ribeiro Dantas, NUNUES, Julia Fernandes de Lima, SILVA, Edna Marques de Araújo. Apresenta: Relação entre a ocorrência de parasitas intestinais e sintomatologia observada em crianças de uma comunidade carente de Cidade Nova, em Natal – Rio Grande do Norte, Brasil. Rev Brasileira de Análises Clínicas, fev. 2003, vol. 35, no.2, p.85-86.
- TAVARES-DIAS, Marcos e GRANDINI, Adriana Aparecida. Prevalência e aspectos epidemiológicos de enteroparasitoses na população de São José da Bela Vista, São Paulo. Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. jan./fev. 1999, vol.32, no.1, p.63-65. Disponível em: www.scielo.br Acesso em: 13 set. 2003.
- VALLADA, E.P. Manual de exames de fezes: coprologia e parasitologia. Rio de Janeiro: Editora Atheneu, 1988. p.110.
- VALLADA, E. P., CARRARO, K. M. A., 1985. Enteroparasitoses em Itapetininga – SP. Revista Brasileira de Farmácia, v.66 p.74-77.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Ricardo de Souza Abraham
Rua Capitão Shakespeare, 190
CEP. 19400-000 Presidente Venceslau - SP
(44) 3027-6360 r. 248
E-mail: ricardoabraham@itelefonica.com.br

Chlamydia trachomatis*: Diagnóstico Citológico e por Imunofluorescência direta em uma amostra de mulheres do grande Recife

***Chlamydia trachomatis*: Cytological and direct immunofluorescence diagnosis in a sample of women from great Recife**

Adrya Lúcia Peres Bezerra de Medeiros¹; Carlos Eduardo de Queiroz Lima²; Elizabeth Malagueño de Santana³; Diógenes Luis da Motta⁴ & Tetsuo Tashiro⁵

RESUMO - A citologia oncológica cérvico-vaginal, além de ser útil na triagem de câncer cervical, também pode ser utilizada na detecção de características sugestivas de infecção pela *Chlamydia trachomatis* (Ct). O objetivo deste estudo foi comparar a citologia com a técnica de imunofluorescência direta (IFD) para *Chlamydia trachomatis*, utilizando 171 esfregaços cérvico-vaginais de mulheres atendidas no setor de coleta preventiva de câncer de colo uterino, no Centro Integrado de Saúde Amaury de Medeiros-CISAM, no Recife-PE. Seis casos (3,5%) foram positivos para Ct pela IFD. A citologia mostrou inclusões eosinofílicas em células metaplásicas, sendo consideradas sugestivas de infecção por Ct em apenas um caso (0,6%), confirmado pela IFD. A citologia pode contribuir na detecção da infecção Chlamidiana, desde que sejam levadas em consideração coletas adequadas, com presença de células glandulares endocervicais e/ou metaplásicas, além de se considerar também o conhecimento dos critérios citológicos característicos da infecção, visto que, quando comparada à IFD, mostrou baixa sensibilidade. A IFD deve continuar sendo utilizada na detecção de casos de infecção chlamidiana, com critério e, se possível, com maior abrangência em serviços públicos de saúde.

PALAVRAS-CHAVE - *Chlamydia trachomatis*; Citodiagnóstico para *Chlamydia*; Imunofluorescência para *Chlamydia*.

SUMMARY - The uterine cervix cytology, besides being useful in the screen of cervical cancer, it can also be used in the detection of suggestive characteristics of infection by the *Chlamydia trachomatis* (Ct). The objective of this study was to compare the cytology, and, the technique of direct immunofluorescence (IFD) for *Chlamydia trachomatis*, using 171 uterine cervix smears of women assisted in the section of uterine cancer prevention, in Amaury de Medeiros Integrated Center -CISAM, in Recife. Six cases (3,5%) were positive for Ct by IFD. The cytology showed eosinophilic inclusions in metaplastic cells, being considered suggestive of infection for Ct in just one case (0,6%), confirmed by IFD. The cytology can contribute in the detection of the *Chlamydia* infection, if appropriate collecting procedure were applied, for the presence of glandular endocervical and/or metaplastic cells, besides being considered also the knowledge of the characteristic cytological criteria of this infection, because, when compared to IFD, it showed low sensibility. IFD should continue being used in the detection of cases of *Chlamydia* infection, with criterion and, if possible, with larger inclusion in public health services.

KEYWORDS - *Chlamydia trachomatis*; Cytodiagnosis of *Chlamydia*; Immunofluorescence for *Chlamydia*.

INTRODUÇÃO

A infecção pela *Chlamydia trachomatis* (Ct) tem sido considerada uma das principais causas de DST (Doença Sexualmente Transmissível). Existe uma diversidade de quadros clínicos causados pela Ct, entre eles podemos observar nas mulheres desde cervicite até um quadro de Doença Inflamatória Pélvica (DIP) com esterilidade e complicações ectópicas. (DE PALO, 1996; PANUCO *et al.* 2000; CATES; WASSERHEIT, 1994).

O diagnóstico da infecção pela Ct ainda é crítico, devido à frequência de infecções assintomáticas. (SEADI *et al.*, 2002). Tradicionalmente, a cultura celular vem sendo bastante considerada no diagnóstico da infecção por Ct, porém recentemente outros métodos para a detecção de antígenos vêm sendo utilizados, como: a Imunofluorescência, Imunoensaio Enzimático, hibridização de DNA e Polymerase Chain Reaction (PCR) (GUERRA *et al.*, 1995; MIRANDA; GADELHA; PASSOS, 2003). Além da citologia cérvico-vaginal que há muito tempo vem sendo proposta para o diagnóstico da infecção por *C. trachomatis*.

A Imunofluorescência direta (IFD), utilizando anticorpos monoclonais marcados com fluorescência, é um dos méto-

dos mais empregados nos laboratórios que não podem utilizar o cultivo celular ou outros métodos mais modernos e sensíveis, devido ao alto custo para sua realização. Foi constatado que, através da imunofluorescência direta em espécimes clínicos endocervicais, pode-se chegar a um diagnóstico de infecção por *C. trachomatis* em aproximadamente 30 minutos, sendo então, de extrema valia e, do ponto de vista dos autores, suficientes para o diagnóstico e controle epidemiológico da infecção urogenital por *C. trachomatis* (ALENCAR *et al.*, 1993).

A técnica de Papanicolaou (citologia oncológica cérvico-vaginal) pode ser utilizada no diagnóstico da *C. trachomatis*, desde que sejam evidenciados critérios morfológicos específicos da infecção, como: a presença de células metaplásicas com citoplasma finalmente vacuolizado, com aparência de moth-eaten ('comido de traça'), sendo esses vacúolos delimitados por membranas finas, bem definidos, contendo no interior estruturas puntiformes eosinofílicas, compatíveis com corpúsculos elementares (GUPTA *et al.*, 1988).

Na coleta da amostra é de extrema importância a presença de células glandulares endocervicais e/ou metaplásicas, visto que a *Chlamydia* é um microorganismo intracelular obrigatório, com preferência por estas células.

Recebido em 18/04/2006

Aprovado em 13/12/2006

*Trabalho realizado como parte de dissertação de Mestrado em Patologia, área de concentração-Morfologia aplicada, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE.

¹Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Patologia/E-mail: adryaperes@hotmail.com

^{2,4}Professor Adjunto do Laboratório de Citologia Clínica e Histologia Quantitativa- Departamento de Ciências Farmacêuticas CCS/UFPE

³Professora Adjunta do Laboratório Keizo Asami/UFPE

⁵Professor Assistente do Departamento de Educação Física -UFPE

Realizou-se este estudo tendo como objetivos evidenciar parâmetros diagnósticos indicativos de infecção por Ct, utilizando critérios morfológicos em esfregaços cérvico-vaginal através da técnica de Papanicolaou e correlacionar os achados citomorfológicos com a reatividade da imunofluorescência direta.

MATERIAL E MÉTODOS

População de estudo – Características:

Foram analisados materiais endocervicais e ectocervicais de 171 mulheres que freqüentavam diariamente o serviço do Centro Integrado de Saúde Amaury de Medeiros da Universidade de Pernambuco para realização de citologia oncológica preventiva. A faixa-etária selecionada foi de 18-35 anos, sendo distribuídas nas seguintes faixas-etárias: 18 a 22, 23 a 27, 28 a 32 e 33 a 37 anos.

A coleta de material endocervical e ectocervical foi colhida para realização de citologia oncológica e, ao mesmo tempo, o material endocervical para imunofluorescência direta utilizando anticorpos monoclonais.

Um questionário contendo dados de anamnese ginecológica e obstétrica, além de queixa ginecológica, foi submetido a cada caso selecionado para o estudo.

As pacientes selecionadas foram consultadas a participar da pesquisa mediante consentimento de um termo livre e esclarecido e este projeto foi autorizado pelo comitê de ética em pesquisa da UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO.

Citologia Oncológica cérvico-vaginal:

As amostras foram colhidas na área da ectocérvice com a espátula de Ayre e, então, dispôs-se todo o material sobre uma lâmina identificada. Em seguida foi introduzida a escova no canal cervical e, então, a amostra foi distribuída sobre a mesma lâmina.

Imediatamente após a coleta, as lâminas foram fixadas em álcool etílico 99,5% e coradas através da técnica de Papanicolaou, montadas com bálsamo do Canadá e analisadas em microscopia óptica com aumento de 100X e 400X.

Foram consideradas sugestivas de infecção por *C. trachomatis* apenas aquelas que apresentavam inclusões eosinofílicas que, segundo Gupta *et al.* (1988), seriam vacúolos delimitados por membranas finas, mas bem definidos, contendo em seu interior estruturas puntiformes eosinofílicas, compatíveis com corpúsculos elementares.

Imunofluorescência Direta:

Foram colhidas amostras endocervicais como descrita acima e posteriormente fixadas em acetona PA. As lâminas assim preparadas foram submetidas à técnica de Pathfinder *Chlamydia trachomatis* Direct Specimen da Bio-Rad®, de acordo com as recomendações do fabricante, e examinadas em microscópio de fluorescência. Avaliou-se nos esfregaços a presença de corpúsculos elementares (CE) verdes fluorescentes. Sendo consideradas positivas as amostras que apresentavam pelo menos 5 corpos de inclusão por lâmina, *cut-off* recomendado pelo fabricante.

Análise Estatística:

Os resultados obtidos foram submetidos à análise, utilizando-se o programa estatístico SPSS para Windows. Foi feita análise descritiva de todas as variáveis do estudo, sendo as variáveis apresentadas em valores absolutos e relativos.

RESULTADOS

As mulheres incluídas no estudo eram sexualmente ativas, apresentavam-se sintomáticas em 85/171 (49,7%) dos casos. Sendo esses sintomas clínicos corrimento vaginal e/ou desconforto pélvico. A faixa etária das mulheres variou de 18 a 35 anos.

Em 9 (5,3%) dos casos, as mulheres relataram história de aborto, além de 1 (0,6%) que também apresentava dificuldade para engravidar, 2 casos apenas apresentavam dificuldade para engravidar. Cento e vinte dois deles relataram história obstétrica normal e 37 (21,6%) não relataram história obstétrica.

Foi observado que em apenas 1 (0,6%) mulher a citologia apresentou características de *C. trachomatis*. (Figura 1).

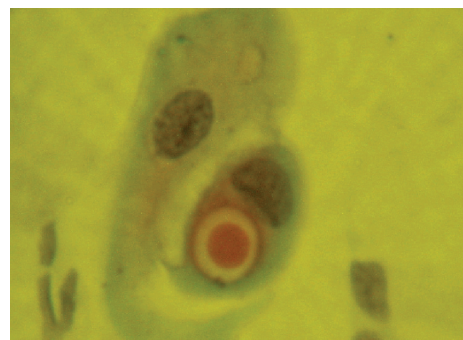


Figura 1- Esfregaço cérvico-vaginal. Coloração de Papanicolaou. 400X inclusão sugestiva de *Chlamydia trachomatis*.

Na população analisada, em relação à presença de componente endocervical e/ou da zona de transformação, 72 (42,1%) mulheres apresentavam células glandulares endocervicais. Cinquenta e oito (33,9%) células glandulares endocervicais e metaplásicas escamosas, 13 (7,6%) apenas metaplásicas escamosas e 27 (15,8%) não demonstraram nenhum destes componentes celulares. Uma lâmina citológica analisada foi insatisfatória por esfregaço purulento. Através da Imunofluorescência direta, mostrando acima de 5 corpúsculos elementares nos esfregaços endocervicais, 6/171 (3,5%) casos foram positivos, enquanto que nas 165 restantes não se encontrou nenhum corpúsculo elementar fluorescente.

A mulher que apresentou características sugestivas de *Chlamydia trachomatis* na citologia, sendo confirmada através da IFD, relatou sintomas de corrimento vaginal. Enquanto que, das pacientes que apresentavam IFD positiva, 4/171 (2,3%) eram sintomáticas e 2/171 (1,2%) mulheres, assintomáticas. Apenas 1/6 pacientes positivas para antígenos de Ct relatou história prévia de aborto, enquanto 4/6 relataram história obstétrica normal e 1/6 não teria filho. As mulheres positivas para Ct por IFD estavam entre as duas faixas-etárias mais freqüentes no estudo 23-27 e 28-32 anos, sendo a positividade para Ct 4/6 (66,7%) e 2/3 (33,3%) respectivamente.

Correlacionando a IFD com a presença de componente endocervical e/ou zona de transformação, todas as pacientes com positividade para Ct na IFD apresentavam células glandulares endocervicais e/ou metaplásicas escamosas na citologia (Tabela 1).

TABELA I
Correlação da reação de IFD para Ct com a presença de componente endocervical e/ou da zona de transformação.

IFD	CÉLULAS				TOTAL
	AUSÊNCIA	ENDOCERVAIS	END E MET	METAPLÁSICAS	
NEGATIVO	27	69	56	12	165
POSITIVO		3	2	1	6
TOTAL	27	72	58	13	171

END- ENDOCERVAIS; MET- METAPLÁSICAS; IFD- IMUNOFLOURESCÊNCIA DIRETA.

Sensibilidade e especificidade da citologia oncótica cérvico-vaginal utilizando como padrão ouro a técnica de Imunoflorescência direta: A citologia mostrou uma sensibilidade de 16,6% enquanto que a especificidade observada foi de 100%.

DISCUSSÃO

Barberis *et al.* (1997) relatam que um dos fatores de risco nas infecções seria a idade; o grupo etário mais afetado estaria compreendido entre 21 e 30 anos, devido a uma maior atividade sexual ou maior número de parceiros. No entanto, Miranda *et al.* (2003) reportam que a baixa idade é um dos fatores de risco mais importantes. A idade inferior a 20 anos ou a 25 anos, dependendo da população estudada, seria o principal fator de risco. Neste estudo, analisando 171 mulheres selecionadas aleatoriamente entre as que freqüentavam o serviço ambulatorial do CISAM para realização de citologia oncótica cérvico-vaginal, oriundas das diversas regiões do grande Recife, observou-se que a faixa-etária com maior positividade para Ct foi a compreendida entre 23 e 27 anos (4/171), sendo as demais 28 e 32 anos (2/171). Com isso, observou-se que a maior freqüência da infecção estaria próxima da faixa etária citada por Barberis *et al.* (1997), em Rio Cuarto, na Argentina, onde foram analisadas 369 mulheres sexualmente ativas. No entanto, não se achou casos positivos em idades inferiores a 21 anos. Vale ressaltar que as faixas-etárias mais freqüentes no nosso estudo foram as de 23 a 27 e 28 a 32 anos.

Seadi *et al.* (2002) relatam que um fator limitante no diagnóstico da infecção chlamidiana são as infecções assintomáticas, embora que a maioria dos estudos realizados estão orientados mais em detectar populações sintomáticas, deixando escapar as de baixo risco sem sintomas. Neste estudo não houve diferença significativa em relação as pacientes sintomáticas (49,7%) e assintomáticas (50,3%). Melles *et al.* (2000) isolaram Ct de material endocervical de 14 (8,4%) mulheres do grupo das assintomáticas. Ravel (1997) cita que 60-80% das mulheres infectadas por Ct são assintomáticas; confirmando estes achados, Codes *et al.* (2002) observaram que 60% das mulheres infectadas não apresentam sintomas. Barberis *et al.* (1997) constataram que 71,4% das mulheres com infecção por Ct foram sintomáticas e 28,6%, assintomáticas. Neste estudo observou-se que, do total de pacientes positivas para antígeno de Ct, apenas 2/6 (33,3%) mostraram-se assintomáticas e 4/6 (66,7%) relataram algum sintoma. No entanto, estes sintomas podem estar ou não relacionados à presença da infecção, pois pode existir a presença de outro microrganismo que também poderia expressar sintomas semelhantes. Assim, reafirmamos a conclusão de autores de que não

existe, de fato, sintomas que se possa dizer, específicos de infecção genital pela Ct. Não devendo, portanto, este parâmetro ser utilizado como hipótese diagnóstica.

A maior parte das pacientes estudadas não relatam queixas na sua história obstétrica, compreendendo 122/171 (71,3%) com história obstétrica normal e 37/171 (21,6%) sem história obstétrica. Porém, 10/171 (5,9%) já tiveram aborto e 2/171 (1,2%) teriam dificuldade para engravidar. Das pacientes com positividade para Ct através da IFD, apenas 1/6 (16,7%) apresentou problema obstétrico (aborto), enquanto as 5/6 pacientes não relataram nenhum problema obstétrico. Angeles *et al.* (1999) evidenciaram uma freqüência de 43,65% de infecção em uma população com problemas de reprodução.

A prevalência de Ct na população estudada foi de 3,5%. Estudos mostram prevalência desse microrganismo variando conforme origem das populações estudadas. Stinghen; Nascimento e Leonart (2004), em Curitiba-PR, encontraram 3,7%; Miranda *et al.* (2000), 13%, em Vitória -Espírito Santo; Codes *et al.* (2002), 11,4%, na Bahia; Frias *et al.* (2001), em Teresópolis-RJ, encontraram positividade para Ct em 5% da amostra analisada.

A amostra citológica pelo método de Papanicolaou mostrou presença de componente endocervical e/ou da zona de transformação (células metaplásicas) em 83,6% das pacientes estudadas, estando incluídas neste percentual todas as pacientes com positividade para Ct 6/171, pelos diferentes métodos laboratoriais utilizados. Sendo, então, observado que não necessariamente tendo uma amostra representativa, pode-se constatar características citológicas sugestivas da infecção por Ct, mesmo sendo positiva em outro método laboratorial.

No entanto, um dado importante que deve ser levado em consideração na análise citológica durante investigação de infecção chlamidiana, segundo Shirata *et al.* (1992) e Cavaliere *et al.* (1989), seria a presença de células endocervicais e/ou metaplásicas. Já Stinghen, Nascimento e Leonart (2004) citam que um diagnóstico confiável está diretamente associado a uma coleta representativa da região infectada, no caso de cervicites, a região endocervical. Gupta *et al.* (1979), assim como Borges e Vera (1986) evidenciaram a *Chlamydia trachomatis* nos esfregaços cervicais através da observação de inclusões no citoplasma das células metaplásicas pavimentosas e colunares endocervicais.

Caudill, Humphrey e Goellner (1994) e Pandit *et al.* (1992) não aprovam a eficiência da citologia no diagnóstico da infecção por Ct. No entanto, outros mostram uma boa aceitação de ambos os métodos.

No presente estudo, os efeitos citopáticos sugestivos de infecção por Ct foram identificados em 1/171 (0,6%) das pacientes pelo método de Papanicolaou, sendo utilizados critérios propostos por Gupta *et al.* (1988). Em 6/171 (3,5%) foi determinado Ct através da reatividade pela IFD, estando incluído nestes o caso detectado pela citologia. Stinghen, Nascimento e Leonart (2004) detectaram 3,6% de positividade para Ct, utilizando a IFD e 1,4% com o método de Papanicolaou. Cavaliere *et al.* (1989) obtiveram 6,8% de amostras positivas no exame citológico e 20,5% por IFD.

No entanto, os 5/6 (3,0%) diagnosticados positivos para Ct apenas por IFD não demonstraram nenhum critério sugestivo da infecção na citologia. Todavia, Gupta *et al.* (1979) evidenciaram que o estágio final da infecção por *Chlamydia* seria identificado pela presença de inclusões intracitoplasmáticas com bordos definidos, moldagem, elevação e formação de target central. Pode-se, então, defender que existe certa influência do estágio da infecção na detecção

da Ct utilizando o método citológico. Observou-se, com isso, que na IFD não existe esta influência; portanto, existe a vantagem de ser um diagnóstico mais precoce, bastando apenas que haja a presença ativa da bactéria e seus antígenos.

Mejia *et al.* (1989) Raddi e Soares (1994) observaram a sensibilidade e a especificidade para o Papanicolaou em torno de 27% e 80%, respectivamente. Nas proximidades desses percentuais, encontram-se neste trabalho, os quais evidenciaram 16,6% e 100% de sensibilidade e especificidade, respectivamente.

A citologia pode contribuir na detecção da infecção chlamidiana, porém faltam fatores para aumentar sua sensibilidade, embora, demonstre boa especificidade.

Apesar das diversas controvérsias observadas entre as técnicas, foi possível evidenciar que a técnica de Papanicolaou, desde que seja realizada com amostra adequada, ou seja, com representação celular satisfatória e criteriosamente analisada, pode ser considerada como diagnóstico eficaz na detecção da Ct.

Este estudo sugere que a citologia pode contribuir para o diagnóstico da infecção chlamidiana, entretanto não deve ser considerado um método diagnóstico único conclusivo. Assim, como é utilizada na triagem para detecção do câncer cervical, pode ser relevante na triagem, em serviços públicos de saúde, sugerindo um rastreio mais definido de DSTs, considerando em especial a *Chlamydia trachomatis*. Assim sendo, pode-se concluir que é possível identificar *Chlamydia trachomatis* em esfregaços cérvico-vaginais de pacientes infectadas, desde que seja levada em consideração a presença de células glandulares endocervicais e/ou metaplásicas, além de exigir o conhecimento dos critérios citológicos indicativos da infecção chlamidiana.

REFERÊNCIAS

1. ALENCAR, A. A. F.; FERREIRA, L. C. L.; LOUREIRO, J. A. S. Detecção de Chlamydia Trachomatis por imunofluorescência direta em esfregaços endocervicais. J. Bras. Ginecol. Rio de Janeiro, v. 103, n. 6, p.199-203, 1993.
2. ANGELES, R. Contribución al estudio de la prevalencia de la infección por Chlamidia en parejas con infertilidad. Ginecol. Obstet. Mex., México, v. 45, n.3, p.167-171, 1999.
3. BARBERIS, I.; PÁJARO, M.C.; GDINO, S. D.; ALBESA, I. JA et al. Detección de Chlamydia trachomatis por enzimo inmunoensayo con anticuerpos monoclonales en mujeres sexualmente activas. Acta Bioquím. Clin. Latinoam., Buenos Aires, v. 31, n. 2, p. 183-187,1997.
4. BORGES, R. J.; VERA, I. Correlation between clinicol and morphologic aspects of gynecologic infections by chlamydia trachomatis trate with tibioties. Acta Cytol., St. Louis, v. 30, n. 5, p. 558, 1986.
5. CATES, J.; WASSERHEIT, J. N.; MARCHBANTES, P. A. 'Pelvic Iflammatory Disease & Tubal Infertility: The preventable ditions', Ann. N Y Acad. Sci., New York, v. 709, p.179-185, 1994.
6. CAUDILL, J. L.; HUMPHREY, S. K.; GOELLNER, J. R. Cervicovaginal Cytology and the Diagnosis of Chlamydia trachomatis: a Comparison With Immunofluorescent Results. Diagn. Cytopathol., New York, v. 11, n 1. p. 20-22,1994.
7. CAVALIERE, M. J.; SHIH, L. W. S.; YAMAMOTO, L. S. U.; MAEDA, Y. S.; COSTA, L. M.; SANTOS, S. I. S. Chlamydia Trachomatis: importância da colheita endocervical no diagnóstico pelo método de Papanicolaou. Rev. Paul. Méd., São Paulo, v. 107, n. 1, p. 25-28, 1989.
8. CODES, J. S.; COHEN, D. A.; MELO, N. A.; SANTOS, A. B.; CODES, J. J. G.; SILVA JÚNIOR, J. C.; RIZZO, R. Detecção de Doenças Sexualmente Transmissíveis em Clínica de Planejamento Familiar da Rede Pública no Brasil. Rev. Bras. Ginecol. Obstet, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 101-106, mar. 2002.
9. DE PALO, G. Colposcopia e patologia do trato genital inferior. 2. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1996. p. 106-108.
10. DE PALO, G.; CHANEN, W.; DEXEUS, S. Patologia e tratamento do trato genital inferior. Rio de Janeiro: Medsi, 2002. p194-195.
11. FRIAS, M. C. A. A.; PEREIRA, C. F. A.; PINHEIRO, V. M. S.; PINHEIRO, M.

- S.; ROCHA, C. F. Frequência de Chlamydia trachomatis, Ureaplasma Urealyticum e Mycoplasma hominis na Endocérvice de Mulheres no Menacme. DST J. Bras. de Doenças Sex. Transm., Rio de Janeiro, v. 13, n. 3, p. 5-22, 2001.
12. GAROZZO, G.; LOMEIO, E.; LA GRECA, M.; CASTIGLIONE, M. G.; CARUSO, M.; SORRENTI, M.; GRILLO, S. Chlamydia trachomatis diagnosis: a correlative study of pap smear and direct immunofluorescence. Clin. Exp. Obstet. Gynecol., Padova, v. 20, n. 4, p. 259-263, 1993.
13. GEELING, S. et al. Sensitivity and specificity of the Papanicolaou stained cervical linear in the diagnosis of chlamydia trachomatis. Acta Cytol., St Louis, v. 29, n. 5, p. 671, 1975.
14. GUERRA, I. F. M. Evaluación de la sensibilidad y especificidad, de três reactivos de imunofluorescência directa para el diagnóstico de Chlamydia trachomatis. Ginec. Obst. Mex., México, v. 63, p. 368-373, 1995.
15. GUPTA, P. K.; LEE, E. F.; EROZAN, Y. S.; FROST, J. K.; GEDDES, S. T.; DONOVAN, P. A. Cytologic investigations in Chlamydia infection. Acta Cytol., St. Louis, v. 23, p.315-320, 1979.
16. GUPTA, P. K.; SHURBAJI, M. S.; MINTOR, L. J.; ERMATINGER, S. V.; MYERS, J.; QUINN, T. C. Cytopathologic detection of Chlamydia trachomatis in vaginopancervical (Fast) smears. Diagn. Cytopathol., New York, v. 4. n. 3. p. 224-229,1988.
17. MELLES, H. H. B.; COLOMBO, S.; LINHARES, I. M.; SIQUEIRA, L. F. Avaliação de parâmetros para o diagnóstico laboratorial de infecção genital feminina pela Chlamydia trachomatis. Rev. Soc. Bras. Med. Trop, São Paulo, v. 33, n. 4, 2000.
18. MIRANDA, A. E.; VARGAS, P. R. M.; ST LOUIS, M. E.; VIANA, M. C. Sexually transmitted diseases among female prisoner in Brazil: prevalence and risk factors. Sex. Transm Dis., v. 27. n. 9. p. 491-495, 2000.
19. MIRANDA, A. E.; GADELHA, A. M. J.; PASSOS, M. R. L. Impacto da Infecção pela Chlamydia trachomatis na saúde reprodutiva. DST J. Bras. Doenças Sex. Transm., Rio de Janeiro, v. 15. n. 1. p. 53-58, 2003.
20. PANDITI, A. A.; KLHILNANI, P. H.; POWAR, H. S.; MALI, B. N.; JOSHI, J. V.; KRISHNA, U. Value of Papanicolaou Smear in Detection os Chlamydia trachomatis Infection. Diagn. Cytopathol., New York, v. 9, n. 2, p.164-167, jun. 1992.
21. PÁNUCO, C. A. B.; RODRÍGUEZ, I. D.; MÉNDEZ, J. T. H.; GUZMÁN, L. A. M.; FIERRO, D. A.; MURILLO, J. M.; MALDONADO, E. R. Detection of Chlamydia trachomatis in pregnant women by the Papanicolaou technique, enzyme immunoassay and polymerase chain reaction. Acta Cytol., St. Louis, v. 44, n. 2, p. 114-123, 2000.
22. RADDI, M. S. G.; SOARES, C. P. Comparação do Papanicolaou e cultura em células para diagnóstico de infecções cervicais causadas por chlamydia trachomatis. Rev. Bras. Anal., Rio de Janeiro, v. 26, n. 4, p.117-121, 1994.
23. RAVEL, R. Laboratório clínico. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 180-182.
24. MEJIA, R. M. S.; AVILES, G. E.; SALINAS, J. O.; NEVAREZ, P. H.; JAIMES, E. C.; GOMEZ, C.M. Detección de infección endocervical por Chlamydia comparando la tinción de Papanicolaou con inmunofluorescência directa. Ginecol. Obste. Mex., México, v. 57, n. 2, p. 29-36, 1989.
25. SEADI, C. F.; ORAVEC, R.; VON POSER, B.; CANTARELLI, V. V.; ROSSETTI, M. L. Diagnóstico laboratorial da infecção pela Chlamydia trachomatis: vantagens e desvantagens das técnicas. J. Bras. Patol. Med. Lab., Rio de Janeiro, v. 38, n. 2, p.125-133, 2002.
26. SHIRATA, N. K.; ANDRÉA FILHO, A.; LONGATTO FILHO, A.; SANTOS, D. R.; MAEDA, M. Y. S.; CAVALIÈRE, M. J.; OYAFUSO, M. S.; SHIH, L. W. S. Utilidade do uso combinado de colheita com cytobrush e espátula de Ayre para o exame citológico cérvico-vaginal. J. Bras. Ginecol., São Paulo, v. 102, n. 1, p.15-18, 1992.
27. STINGHEN, A. E. M.; NASCIMENTO A. J.; LEONART, M. S. S. Método de papanicolaou em material cérvico-vaginal para a triagem de infecção por Cândida sp., Trichomonas vaginalis e Chlamydia trachomatis. RBAC, Rio de Janeiro, v. 36, n. 2, p. 111-115, 2004.
28. VINETTE-LEDUC, D.; YAZDI, H. M.; JESSAMINE, P.; PEELING, R. W. Reliability of cytology to detect Chlamydial infection in asymptomatic women. Diagn. Cytopathol., New York, v. 17, n. 4, p. 258-261, 1997.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Carlos Eduardo de Queiroz Lima
Rua Ministro Nelson Hungria, 414/301
CEP. 51020-100 Boa Viagem - Recife - PE
E-mail: ceql@uol.com.br

Efeito da leucocitospermia na análise do sêmen*

Effect of polymorphonuclear leucocytes on semen analysis

Francine Muraro¹; Tanara Caroline Hennemann¹; Karin Jaeger Anzolch² &
Osmar Luiz Magalhães Oliveira³

RESUMO - A infertilidade conjugal é um problema que afeta muitos casais e há diversos procedimentos clínicos e laboratoriais para investigar sua etiologia. O exame do sêmen é um procedimento comumente adotado nesta investigação, pois sua análise contribui significativamente para avaliar o fator masculino. Este estudo visou verificar o efeito dos leucócitos em parâmetros rotineiramente analisados no espermograma, que incluem a concentração, motilidade e morfologia dos espermatozoides. Os polimorfonucleares (PMN) foram marcados pela técnica da peroxidase, e as 90 amostras de sêmen de homens submetidos à triagem de infertilidade foram divididas em dois grupos, de acordo com a concentração de leucócitos: as de pacientes leucocitospérmicos (concentração superior a $1 \times 10^6/\text{ml}$ de sêmen) e as de pacientes não-leucocitospérmicos (concentração inferior a $1 \times 10^6/\text{ml}$ de sêmen). Observou-se um aumento da concentração de espermatozoides com a presença de leucócitos e o percentual de espermatozoides móveis/imóveis e anormais não foi alterado. De maneira geral, a leucocitospermia não altera a qualidade do sêmen.

PALAVRAS-CHAVE - Leucocitospermia, concentração espermática, motilidade espermática, morfologia espermática.

SUMMARY - Infertility within marriage is a problem that affects many couples and for which several clinical and laboratorial procedures are available to investigate its etiology. Semen testing is a commonly adopted procedure in such investigations, as its analysis contributes significantly in assessing the male factor. This study aimed to verify the effect of leukocytes on parameters routinely analyzed in spermograms, including the concentration, motility and morphology of the spermatozooids. Peroxidase assay was used to identify the polymorphonuclear leukocytes (PMN), and the 90 semen samples from men submitted to infertility testing were divided into two groups according to the leukocyte concentration: leukocytospermic patients (concentration higher than $1 \times 10^6/\text{ml}$ of semen) and non-leukocytospermic patients (concentration lower than $1 \times 10^6/\text{ml}$ of semen). An increase in the concentration spermatozooids in the presence of leukocytes was observed, while the percentage of mobile/immobilized and abnormal spermatozooids was not altered. In general, the leukocytospermia did not alter the quality of the semen.

KEYWORDS - Leukocytospermia, sperm concentration, sperm motility, sperm morphology.

INTRODUÇÃO

Um dos exames laboratoriais mais usados para a investigação de infertilidade masculina é o espermograma (Andrade-Rocha, 1998). A rotina deste exame inclui análises das características dos espermatozoides, da atividade secretora das glândulas acessórias, da competência funcional dos espermatozoides e alguns exames complementares, como a pesquisa de anticorpos anti-espermatozoides (Andrade-Rocha *et al.*, 1996).

O sêmen é um líquido biológico formado, principalmente, por duas partes. A primeira é constituída pelo plasma seminal que contém produtos bioquímicos essenciais para os espermatozoides. A segunda, contém elementos figurados que compreendem os espermatozoides e, eventualmente, pode-se observar uma população de células redondas compostas, principalmente, de células germinativas imaturas e de leucócitos (Organização Mundial da Saúde-OMS, 1992; Andrade-Rocha *et al.*, 1996).

Os leucócitos estão presentes no trato reprodutor masculino e são encontrados em quase todos os ejaculados humanos. Fisiologicamente, eles desenvolvem um papel importante na imunovigilância e na fagocitose de espermatozoides anormais (Aziz *et al.*, 2004). Os leucócitos predominantes no sêmen são os granulócitos, que representam 50 a 60% dos leucócitos totais, seguidos pelos macrófagos/monócitos e pelos linfócitos T, que representam, respectivamente, 20 a 30% e 2 a 5% (Thomas *et al.*, 1997; Aziz *et al.*, 2004).

Foi definido pela OMS que, quando a concentração de leucócitos for superior a $1 \times 10^6/\text{ml}$ de sêmen, tem-se uma leucocitospermia (OMS, 1992). A mesma pode ser causada por infecção no trato genital, espermato gênese anormal e

inflamação não infecciosa (Kaleli *et al.*, 2000; Trum *et al.*, 1998; Henkel *et al.*, 2003; Krause *et al.*, 2003).

A leucocitospermia pode ser diagnosticada usando métodos imuno-histoquímicos, citológicos e técnicas morfológicas. Embora a marcação com peroxidase detecte apenas polimorfonucleares (PMN), ela foi recomendada pela OMS para propósitos clínicos, já que a mesma apresenta vantagens por ser uma técnica de fácil execução, rápida e barata, quando comparada a outros métodos mais sofisticados que empregam o uso de anticorpos monoclonais (Thomas *et al.*, 1997).

Vários estudos correlacionam leucocitospermia e a qualidade do sêmen. Porém, esta relação permanece indefinida, já que há contradições entre os trabalhos publicados. Enquanto alguns autores encontraram correlação positiva entre o aumento da concentração de leucócitos e a morfologia anormal (Tomlinson *et al.*, 1992; Tomlinson *et al.*, 1993; Kiessling *et al.*, 1995), assim como com a concentração de espermatozoides (Kaleli *et al.*, 2000), outros encontraram correlação negativa na avaliação destes parâmetros (Leib *et al.*, 1994; Menkveld e Kruger, 1998; Arata de Bellabarba *et al.*, 2000; Ricci *et al.*, 2002). Já em relação a motilidade foram descritos estudos em que houve diminuição da mesma com o aumento da concentração de leucócitos (Aziz *et al.*, 2004). Além disso, há vários trabalhos em que não foram observadas alterações nestes três parâmetros (Kaleli *et al.*, 2000; Fedder *et al.*, 1993; Van der Ven *et al.*, 1987; Rodin *et al.*, 2003; Aziz *et al.*, 2004). O objetivo deste trabalho é avaliar se a leucocitospermia altera parâmetros do espermograma, como concentração, morfologia e motilidade dos espermatozoides, em pacientes submetidos à triagem de infertilidade.

Recebido em 29/03/2006

Aprovado em 19/12/2006

*Trabalho realizado no Laboratório Mont'Serrat análises clínicas, de Porto Alegre, RS.

¹Acadêmica da ênfase em Análises Clínicas da UFRGS.

²Médica Urologista.

³Professor assistente do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra de Sêmen

O material foi obtido de 90 pacientes com idade entre 20 e 50 anos, submetidos à triagem de infertilidade, em um laboratório de Porto Alegre. As amostras de sêmen foram divididas em dois grupos de acordo com a concentração de leucócitos: as de pacientes leucocitospérmicos (concentração superior a 1×10^6 /ml de sêmen) e as de pacientes não-leucocitospérmicos (concentração inferior a 1×10^6 /ml de sêmen). O método de coleta foi a masturbação, após um período recomendado de abstinência sexual de 3 a 5 dias. O sêmen, coletado em frasco de vidro, foi armazenado em estufa a 37°C , onde se controlou a liquefação. As amostras foram analisadas, em no máximo, duas horas após a coleta. Pacientes que alegaram perda de material durante o procedimento não participaram do estudo.

Concentração e Motilidade dos Espermatozoides

A concentração foi determinada após análise do volume do sêmen e da contagem total dos espermatozoides. O volume foi medido em frascos de vidro cônico graduado e a contagem dos espermatozoides foi feita em câmara de Makler, com objetiva de 20x, utilizando 20 μl de sêmen. Foram contados 10 compartimentos da câmara e o número de espermatozoides contado foi multiplicado por um milhão, obtendo-se, assim, o número total de espermatozoides no sêmen. Após homogeneizar o sêmen em vórtex, 15 μl do mesmo foram colocados sobre lâmina e coberto por uma lamínula de 20 x 20mm. O preparado foi examinado com aumento de 400x em microscópio óptico comum e, o exame foi feito em temperatura entre 18 a 24°C . Os campos foram examinados sistematicamente, o percentual de espermatozoides móveis e imóveis foi determinado e a motilidade foi classificada, de acordo com a OMS (1992), em grau A (movimento progressivo rápido e linear), B (movimento lento, linear ou não linear), C (espermatozoides móveis sem progressão) ou grau D (imóvel). O percentual de espermatozoides móveis também foi determinado.

Morfologia dos Espermatozoides

A análise morfológica foi feita por esfregaço fixado com metanol e corado pelo método da Hematoxilina de Harris a 33%. O percentual de espermatozoides normais e anormais, bem como a classificação das anormalidades, foram analisados com objetiva de 100x, em óleo de imersão (Kruger *et al.*, 1988).

Teste da Peroxidase

Foi misturado 0,2ml de solução de peróxido de hidrogênio a 3% com 2,0ml de solução de cianossina-benzidina. Da solução preparada, 0,2ml foi misturado com 0,2ml de sêmen liquefeito, colocado na lâmina e coberto com lamínula para posterior análise ao microscópio óptico (Ludwing *et al.*, 1990). A concentração de leucócitos foi determinada através do percentual de células peroxidase positivas (que se coram de marrom) em relação à concentração de células redondas.

Análise Estatística

Os resultados foram expressos por médias $\pm$ desvio padrão (DP). A comparação entre os dois grupos foi realizada pelo teste t Student para amostras pareadas, com $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

As amostras de sêmen obtidas de 90 pacientes foram divididas em dois grupos de acordo com a concentração de leucócitos (superior ou inferior a 1×10^6 /ml de sêmen). O

primeiro grupo, chamado de leucocitospérmico (concentração de leucócitos igual a $1,8 \times 10^6 \pm 1,02 \times 10^6$ /ml de sêmen) continha 49 amostras de doadores com média de idade de $35,7 \pm 5,9$ anos e, o segundo grupo, chamado de não-leucocitospérmicos (concentração de leucócitos igual a $9,87 \times 10^2 \pm 20,69 \times 10^2$ /ml de sêmen) continha 41 doadores com média de idade de $36,2 \pm 6,4$ com $p \leq 0,05$.

TABELA I

Comparação entre os diferentes parâmetros do espermograma de pacientes com e sem leucocitospérnia.

	Concentração de espermatozoides ($\times 10^6$)	Móveis (%)	Anormais (%)
LEUCOCITOSPÉRMICOS	$37,00 \pm 11,46^*$ (n=49)	$78,29 \pm 10,83$ (n=49)	$70,94 \pm 7,11$ (n=49)
NÃO - LEUCOCITOSPÉRMICOS	$22,00 \pm 8,09$ (n=41)	$76,29 \pm 16,83$ (n=41)	$68,68 \pm 7,16$ (n=41)

Pacientes leucocitospérmicos (concentração de leucócitos maior do que 1×10^6 /ml de sêmen). Pacientes não-leucocitospérmicos (concentração de leucócitos menor do que 1×10^6 /ml de sêmen). A concentração dos espermatozoides é expressa por ml de sêmen e, os espermatozoides móveis e anormais, são expressos em percentual. Os valores representam as médias $\pm$ DP. * $p \leq 0,05$ comparado com pacientes leucocitospérmicos.

A tabela 1 mostra a distribuição de resultados dos parâmetros do sêmen em relação aos pacientes leucocitospérmicos e não-leucocitospérmicos. Pode-se observar que há um aumento estatisticamente significativo na concentração de espermatozoides em pacientes leucocitospérmicos quando comparado com os não leucocitospérmicos. Nos demais parâmetros, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos estudados.

TABELA II

Avaliação do movimento dos espermatozoides.

	Grau A (%)	Grau B (%)	Grau C (%)	Grau D (%)
LEUCOCITOSPÉRMICOS	$3,47 \pm 4,72$ (n=49)	$33,57 \pm 13,49$ (n=49)	$41,18 \pm 8,42$ (n=49)	$22,12 \pm 11,14$ (n=49)
NÃO - LEUCOCITOSPÉRMICOS	$3,51 \pm 4,55$ (n=41)	$31,61 \pm 16,13$ (n=41)	$41,10 \pm 9,80$ (n=41)	$23,71 \pm 16,83$ (n=41)

Pacientes leucocitospérmicos (concentração de leucócitos maior do que 1×10^6 /ml de sêmen). Pacientes não-leucocitospérmicos (concentração de leucócitos menor do que 1×10^6 /ml de sêmen). Os graus de motilidade dos espermatozoides, A (movimento progressivo rápido e linear), B (movimento lento, linear ou não linear), C (espermatozoides móveis sem progressão) e D (imóveis), são expressos em percentual. Os valores representam as médias $\pm$ DP.

Na tabela 2 podemos observar que não houve variação estatisticamente significativa entre os diferentes grupos de motilidade classificados de acordo com a OMS.

TABELA III

Distribuição das principais anormalidades que acometem o espermatozoide.

	Cabeça (%)	Peça Intermediária (%)	Cauda (%)
LEUCOCITOSPÉRMICOS	$89,8 \pm 4,49$ (n=49)	$9,51 \pm 3,35$ (n=49)	$0,69 \pm 2,21$ (n=49)
NÃO - LEUCOCITOSPÉRMICOS	$88,24 \pm 4,52$ (n=41)	$10,78 \pm 3,40$ (n=41)	$0,98 \pm 2,68$ (n=41)

Pacientes leucocitospérmicos (concentração de leucócitos maior do que 1×10^6 /ml de sêmen). Pacientes não-leucocitospérmicos (concentração de leucócitos menor do que 1×10^6 /ml de sêmen). As principais anormalidades dos espermatozoides são expressas em percentual. Os valores representam as médias $\pm$ DP.

O percentual de distribuição das principais anormalidades dos espermatozoides mostrado na tabela 3, também não apresentou variação estatisticamente significativa entre os dois grupos.

DISCUSSÃO

Infertilidade conjugal é um problema que afeta muitos casais e há diversos procedimentos clínicos e laboratoriais para investigar sua etiologia. O exame do sêmen é um procedimento comumente adotado nesta investigação, pois fornece informações sobre a atividade funcional dos órgãos genitais, contribuindo significativamente para avaliar o fator masculino (Andrade-Rocha, 1998). Desde que efetuado de forma adequada, dentro de padronizações técnicas recomendadas, o espermograma fornece importantes dados para orientar o diagnóstico etiológico dos distúrbios funcionais do trato reprodutor masculino (Andrade-Rocha *et al.*, 1996). Uma das técnicas recomendadas pela OMS (1992) para a detecção de PMN é o teste da peroxidase. Esta técnica foi utilizada neste estudo para a separação dos pacientes em dois grupos: os que continham concentração de leucócitos superior a 1×10^6 /ml de sêmen, denominados leucocitospérmicos, e os não-leucocitospérmicos, que tinham uma concentração de leucócitos inferior a 1×10^6 /ml de sêmen. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de altas concentrações de leucócitos nos principais parâmetros avaliados na rotina do espermograma, como concentração de espermatozóides, percentual de móveis/imóveis e morfologia.

A membrana celular dos espermatozóides é susceptível ao estresse oxidativo porque contém alta concentração de ácidos graxos insaturados, os quais são necessários para fornecer à membrana plasmática a fluidez necessária para participar nos eventos de fusão de membranas, associados com fertilização (Krause *et al.*, 2003; Henkel *et al.*, 2003). As espécies reativas de oxigênio (ERO), no sêmen, são produzidas principalmente pelos leucócitos e uma quantidade relativamente pequena é gerada por espermatozóides deficientes ou danificados (Kaleli *et al.*, 2000; Krause *et al.*, 2003; Henkel *et al.*, 2003).

Há evidências de que as ERO são necessárias, em pequenas quantidades, para iniciar e propagar processos complexos como a reação do acrossoma e a capacitação espermática (O'Flaherty *et al.*, 1999). Esta última está associada à fosforilação de proteínas pela tirosina, a qual mostrou-se experimentalmente aumentada sob condições oxidantes, e diminuída sob condições redutoras (Aitken *et al.*, 1995). Esses efeitos sugerem um papel modulador para os radicais livres, os quais, em alta concentração, induzem peroxidação lipídica, fragmentação do DNA, resultando em morte celular (Villegas *et al.*, 2003). A geração excessiva de radicais livres, por espermatozóides anormais ou leucócitos, foi identificada como uma das poucas etiologias definidas para a infertilidade masculina (Sharma *et al.*, 1999).

Vários estudos relatam diminuição na concentração de espermatozóides com o aumento da concentração de leucócitos no sêmen (Tomlinson *et al.*, 1992; Wolff *et al.*, 1990; Ricci *et al.*, 2002). Uma das hipóteses, para a diminuição da concentração dos espermatozóides, seria devido ao aumento de ERO produzidas pelos leucócitos, as quais são conhecidas por serem indutoras de apoptose em células somáticas e em espermatozóides maduros. A hipótese alternativa sugere que os leucócitos são atraídos para a remoção de espermatozóides senescentes ou anormais sem liberação de mediadores pró-inflamatórios ou de ERO. O sinal para a apoptose seria a exposição de fosfatidilserina pela membrana plasmática. Tal exposição se comportaria como um sinal quimiotático para a atração e o reconhecimento por leucócitos (Shiratsuchi *et al.*, 1997). Então, leu-

cócitos poderiam remover espermatozóides apoptóticos sem causar reação inflamatória (Ricci *et al.*, 2002).

Porém, neste trabalho, observou-se um aumento da concentração de espermatozóides com a leucocitospermia (Tabela 1). Este estudo está de acordo com as observações de Kaleli *et al.* (2000), que mostraram que somente uma concentração acima de $2,0 \times 10^6$ células peroxidase positivas/ml de sêmen está associada com o efeito deletério na concentração de espermatozóides no plasma seminal.

A motilidade foi outro parâmetro estudado, e não houve uma diferença estatisticamente significativa tanto para o percentual de espermatozóides móveis (Tabela 1) quanto para o percentual do grau de motilidade (Tabela 2). A não redução da motilidade pode ser explicada pela possível reversão do dano causado na membrana do espermatozóide através da peroxidação lipídica provocada pelas ERO. Esta reversão aconteceria devido à fusão de prostassomas (vesículas secretadas pela próstata, em alta quantidade, durante infecções nas glândulas acessórias) com a membrana do espermatozóide, transferindo, assim, o conteúdo lipídico e proteínas necessárias para a motilidade (Arienti *et al.*, 1998).

Durante a avaliação da morfologia não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no percentual de espermatozóides anormais (Tabela 1), e nas suas principais anormalidades (Tabela 3) entre os dois grupos estudados. Embora Kaleli *et al.* (2000) também não tenham encontrado correlação entre esses dois parâmetros, Aziz *et al.* (2004) mostraram associação positiva entre a concentração de leucócitos e o dano morfológico dos espermatozóides. Tais autores correlacionam a leucocitospermia com o aumento da alteração da morfologia provocada pelas ERO, durante a espermiogênese. Já Ricci *et al.* (2002) observaram uma correlação negativa entre os dois parâmetros estudados, argumentando que células fagocíticas estão fortemente correlacionadas com o aumento do percentual de espermatozóides morfológicamente normais e hipotetizando que leucócitos podem aumentar a qualidade do sêmen por remoção de formas degeneradas e anormais.

A discrepância dos resultados entre os diferentes trabalhos pode ser devido, em parte, a diferentes métodos utilizados, à variações nas características populacionais, e principalmente, devido à subjetividade que caracteriza a realização de um espermograma. Pode-se concluir com este estudo que leucócitos no sêmen podem não estar associados com parâmetros anormais do espermograma. Como esta análise foi realizada utilizando-se apenas pacientes sob triagem de infertilidade, sugere-se que sejam realizados mais estudos incluindo doadores férteis, para que seja possível descartar outras variáveis que possam interferir, mesmo que indiretamente, na análise da influência dos leucócitos na qualidade do sêmen.

REFERÊNCIAS

1. Aitken R.J., Paterson M., Buckingham D.W., van Duin M. Redox regulation of tyrosine phosphorylation in human spermatozoa function. *J Cell Sci* 108:2017-2025, 1995.
2. Andrade-Rocha F.T., Carvalho P.P.N.G. O papel do exame do sêmen na infertilidade masculina. I - Análise das características dos espermatozóides e de suas células precursoras. *Rev. Bras. An. Clín.* 28:171-178, 1996.
3. Andrade-Rocha F.T. O papel do exame do sêmen na infertilidade masculina. III - Testes para função espermática. *Rev. Bras. An. Clín.* 30:13-21, 1998.
4. Arata de Bellabarba G., Tortolero I., Villarreal V., Molina C.Z., Bellabarba C., Velásquez E. Nonsperm cells in human semen and their relationship with semen parameters. *Arch Androl* 45:131-136, 2000.

5. Arienti G., Carlini E., Saccardi C., Palmerini C.A. Interactions between prostates and leukocytes. *Biochim Biophys Acta* 1425 (nº1):36-40, 1998.
6. Aziz N., Agarwal A., Lewis-Jones I., Sharma R.K., Thomas A.J. Novel association between specific sperm morphological defects and leukocytospermia. *Fertil Steril* 82 (nº3):621-627, 2004.
7. Fedder J., Askjaer A.A., Hjort T. Non-spermatozoa cells in semen: relationship to other semen parameters and fertility status of the couple. *Arch Androl* 31:95-103, 1993.
8. Henkel R., Maa, G., Hajimohammad M., Menkveld R., Stalf T., Villegas J., Sánchez R., Kruger T.F., Schill W.B. Urogenital inflammation: changes of leukocytes and ROS. *Andrologia* 35:309-311, 2003.
9. Kaleli S., Öçer F., Irez T., Budak E., Aksu M.F. Does leukocytospermia associate with poor semen parameters and sperm functions in male infertility? The role of different seminal leukocyte concentration. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 89:185-191, 2000.
10. Kiessling A.A., Lamparelli N., Yin H.Z., Seibel M.M., Eyre R.C. Semen leukocytes: friends or foes? *Fertil Steril* 64: 196-198, 1995.
11. Krause W., Bohring C., Gueth A., Hörster S., Krisp A., Skrzypek J. Cellular and biochemical markers in semen indicating male accessory gland inflammation. *Andrologia* 35:279-282, 2003.
12. Kruger T.F., Acosta A.A., Simmons K.F. Predictive value of abnormal sperm morphology in vitro fertilization. *Fertil Steril* 49:112-117, 1988.
13. Leib Z., Bartoov B., Eltes F., Servadio C. Reduced semen quality caused by chronic abacterial prostatitis: an enigma or reality? *Fertil Steril* 61: 1109-1116, 1994.
14. Ludwig G., Fick J. *Spermatology. Atlas and Manual*. Berlin: Springer-Verlag, 32:3, 1990.
15. Menkveld R., Kruger T.F. Sperm morphology and male urogenital infections. *Andrologia* 30:49-53, 1998.
16. O'Flaherty C.M., Beorlegui N.B., Beconi M.T. Reactive oxygen species requirements for bovine sperm capacitation and acrosome reaction. *Theriogenology* 52:289-301, 1999.
17. Ricci G., Perticarari S., Fragonas E., Giolo E., Canova S., Pozzobon C., Guaschino S., Presani G. Apoptosis in human sperm: its correlation with semen quality and the presence of leukocytes. *Hum. Reprod.* 17 (nº10):2665-2672, 2002.
18. Rodin D.M., Larone D., Goldstein M. Relationship between semen cultures, leukospermia, and semen analysis in men undergoing fertility evaluation. *Fertil Steril* 79 (nº3):1555-1558, 2003.
19. Sharma R.K., Pasqualotto F.F., Nelson D.R., Thomas A.J., Agarwal A. The reactive oxygen species-total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility. *Hum Reprod* 14:2801-1807, 1999.
20. Shiratsuchi A., Umeda M., Ohba Y., Nakanishi Y. Recognition of phosphatidylserine on the surface of apoptotic spermatogenic cells and subsequent phagocytosis by Sertoli cells of the rat. *J. Biol. Chem* 272:2354-2358, 1997.
21. Tomlinson M. J., Barratt C.L., Bolton A.E., Lenton E.A., Roberts H.B., Cooke I.D. Round cells and sperm fertilizing capacity: the presences of immature germ cells but not seminal leukocytes are associated with reduced success of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 58:1257-1259, 1992.
22. Tomlinson M. J., Barratt C.L., Cooke I.D. Propective study of leukocyte subpopulation in semen suggests they are not a cause of male infertility. *Fertil Steril* 60:1069-1075, 1993.
23. Thomas J., Fishel S.B., Hall J.A., Green S., Newton T.A., Thornton S.J. Increased polymorphonuclear granulocytes in seminal plasma in relation to sperm morphology. *Hum. Reprod.* 12 (nº11):2418-2421, 1997.
24. Trum J.W., Mol B.W.J., Pannekoek Y., Spanjaard L., Wertheim P., Bleker O.P., van der Veen F. Value of detecting leukocytospermia in the diagnosis of genital tract infection in subfertile men. *Fertil Steril* 10 (nº2):315-319, 1998.
25. Van der Ven H.H., Jeyendran R.S., Perez- Paleas M., Al-Hasani S., Diedrich K., Krebs D. Leucospermia in male infertility patients. *Eur J Obstet Gynaecol Reprod Biol* 4: 49-52, 1987.
26. Villegas J., Kehr K., Soto L., Henkel R., Miska W., Sánchez R. Reactive oxygen species induce reversible capacitation in human spermatozoa. *Andrologia* 35:227-232, 2003.
27. Wolff H., Politch J.A., Martinez A., Haimovici F., Hill J.A., Anderson D.J. Leukocytospermia is associated with poor semen quality. *Fertil Steril* 53:528-536, 1990.
28. World Health Organization. WHO Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 3rd. ed.; Cambridge, Cambridge University Press, pg 1-106, 1992.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Dr. Osmar Luiz Magalhães Oliveira
Rua Mostardeiro, 333- loja 109
90.430-001 Porto Alegre, RS
e-mail: ooliveira@hcupa.ufrgs.br

34º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas 7º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

10 a 14 de junho de 2007

Local:

Centro de Convenções - EXPOMINAS
Belo Horizonte - MG

Promoção e Realização



SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Teste “in vitro” com ertapenem dentro de um Hospital público do Rio de Janeiro*

“In vitro” test with ertapenem inside a Rio de Janeiro’s public Hospital

Sérgio Barboza dos Santos¹; Fernando Lúcio Guimarães da Silva²; Selma de Souza Romeu³; Giselle da Rocha Thompson Coelho⁴ & Samanta das Graças Oliveira⁴

RESUMO - Ertapenem é o mais novo antibiótico da classe dos carbapênicos do grupo dos betalactâmicos, de amplo espectro e liberado para aplicação clínica em 2001 pela Food and Drug Administration (FDA), sendo primariamente utilizado nos dias atuais contra enfermidades provocadas por diversos microrganismos.

Neste trabalho apresenta-se o perfil desta nova droga monoterápica frente a 305 amostras isoladas e testadas no laboratório de microbiologia de um hospital da rede estadual de saúde do Rio de Janeiro, comparando-os com os resultados apresentados na pesquisada na sua elaboração.

PALAVRAS-CHAVE - Ertapenem; Carbapênico; Antibiótico.

SUMMARY - Ertapenem is the most recent antibiotic of carbapen class of beta-lactamic group, with large specter and free from clinical application in 2001 by Food and Drug Administration (FDA), being used primarily nowadays against infirmities caused by various microorganisms.

In this work, we present the profile of this new monoterapic drug before 305 samples isolated and proved inside microbiologic laboratory of a Rio de Janeiro's State Heath Hospital, comparing to the results presented on research used on this elaboration.

KEYWORDS - Ertapenem; Carbapen; Antibiotic.

INTRODUÇÃO

Ertapenem, denominado como um antibiótico betalactâmico de terceira geração da classe dos carbapênicos, assim como os antecessores (imipenem – 1985 – e meropenem – 1996), é considerado a mais recente arma descoberta contra uma diversidade de agentes causadores de enfermidades.

Utilizado no combate parenteral, principalmente, das doenças relacionadas ao grupo 1 ou comunitárias, torna-se bastante eficaz no uso contra as seguintes patologias:

-Infecções intra-abdominais – Geralmente causadas por um único agente microbiano, tem mostrado resultados semelhantes ou até melhores do que os utilizados por meio de terapia combinada ou similares.

-Infecções de pele e anexos – Neste caso, a administração do ertapenem no tratamento destas moléstias apresentou-se de maneira semelhante a terapia com o uso de uma penicilina associada a um inibidor de betalactamase (PPT).

-Pneumonias – No caso das denominadas pneumonias adquiridas na comunidade (PAC), a igualdade tanto no tratamento com ertapenem quanto com terapia combinada ou similares apresentaram-se bastante eficientes, independentemente do microrganismo responsável.

-Infecções do trato urinário (ITU) – As afecções de origem urinária provocadas em sua grande maioria por membros da Família Enterobacteriaceae, em especial, obtiveram uma resposta mais acentuada com o uso do ertapenem, em relação as outras terapias citadas.

-Doenças inflamatórias pélvicas (DIP) – A monoterapia com ertapenem mostrou melhores resultados do que os outros esquemas terapêuticos, tanto em relação a microrganismos Gram-positivos quanto a Gram-negativos e também de anaeróbios no caso de infecções agudas de origem ginecológica.

Em geral, a administração, via parenteral ou muscular, em dose única diária de 1 grama de ertapenem (exceto nos casos de complicações renais – sua principal via de excreção –, onde utiliza-se a metade da dosagem original), não ultrapassa 10 dias de tratamento, geralmente situando-se na média de 5 dias de antibioticoterapia.

As mesmas informações servem de suporte para a necessidade de implementação de um esquema empírico específico de uso antimicrobiano frente aos diversos agentes causadores das doenças acima. A utilização da monoterapia, acrescida da eficácia em comportar-se melhor que a de outros esquemas terapêuticos (PPT, cefalosporinas de terceira geração, terapia combinada, fluoroquinolonas, cotrimoxazol), sugere que a sua utilização, ao menos no que diz respeito a infecções comunitárias, será utilizada em larga escala em um breve espaço de tempo.

Esta terapia tem importância nos seguintes aspectos em nossa rede de saúde: baixo custo, diminuição do tempo de internação e não-utilização de esquemas de doses múltiplas, levando a um decréscimo geral do processo de internação.

Cabe salientar que a administração de ertapenem mostra-se ser a única e mais eficaz atividade “in vitro” contra infecções isoladas (aeróbias ou anaeróbias) ou mistas de origem comunitária, apresentando, no entanto, pouca ou nenhuma ação contra os agentes microbianos hospitalares ou grupo 2. Por este motivo, torna-se desaconselhável a utilização de ertapenem em setores de terapia intensiva (UTI). Neste caso, a administração de outros carbapênicos apresenta melhores resultados bactericidas.

Geralmente, o ertapenem é bem tolerado “in vivo”, apresentando, na maioria das vezes, efeitos colaterais brandos: diarreia, náusea, dor de cabeça, vômito. Por isso, não é recomendável a sua utilização em pacientes com idade inferior a 18 anos de idade.

Recebido em 04/05/2006

Aprovado em 07/07/2006

*Trabalho realizado no Laboratório de Microbiologia do Hospital Estadual Adão Pereira Nunes (HEAPN) – SES-RJ.

¹Biólogo da Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro

²Biólogo Supervisor do Laboratório do Hospital Estadual Adão Pereira Nunes – Rio de Janeiro

³Bióloga do Laboratório de Microbiologia do Hospital Geral de Nova Iguaçu

⁴Técnicas de Laboratório da Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro

MICROBIOLOGIA

Este antibiótico possui amplo espectro de ação contra uma variedade de microrganismos: cocos Gram-positivos (CGP), bastonetes Gram-negativos (BGN) e os anaeróbios, sendo alta inclusive a atividade bactericida contra estes. Apresenta, entretanto, atividade limitada ou nula contra os seguintes agentes: *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina (MRSA), enterococos, *Pseudomonas aeruginosa*, bastonetes Gram-negativos não-fermentadores (BGN-NF), micobactérias, *Chlamydia sp.* e *Mycoplasma sp.*

A eficiência é demonstrada contra *S. aureus* sensíveis à oxacilina (MSSA), *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* (A), *S. agalactiae* (B), todas as enterobactérias (incluindo as produtoras de betalactamase), *H. influenzae*, *M. catarrhalis* e a grande maioria dos anaeróbios.

O mecanismo de ação deste importante antibiótico repousa na competição, em nível de receptores na membrana celular bacteriana, com as chamadas proteínas de ligação das penicilinas (PBP), o que leva, devido à substituição, a uma intensa modificação na estabilidade estrutural de toda a parede celular do microrganismo.

Assim como todos os outros antibióticos, o seu uso prolongado pode levar ao aparecimento de cepas resistentes, apesar de ser considerado um fraco indutor de resistência microbiana. Pelo menos até o momento.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de agosto a dezembro de 2004, 305 amostras bacterianas oriundas de diversos setores foram isoladas no Laboratório de Microbiologia do Hospital Adão Pereira Nunes (Saracuruna), vinculado à Secretaria de Saúde do Estado do Rio de Janeiro. Todas as amostras foram submetidas a crescimento, isolamento e identificação segundo normas estabelecidas por entidades internacionais.

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) utilizou a técnica de Kirby e Bauer, que consiste no método de difusão em disco (Oxoid), este fornecido pela empresa *Merck, Sharp & Dohme*, apresentando uma concentração por disco de 10 microgramas. Após incubação por até 24 horas, efetuou-se a leitura dos halos encontrados nos microrganismos testados. Controle da qualidade interno foi efetuado visando ratificar, comparativamente, os resultados dos ensaios encontrados.

Todos os procedimentos acima descritos foram realizados em capela de segurança biológica número 2, instalada no setor.

RESULTADOS

Das 305 amostras examinadas no Laboratório de Microbiologia do Hospital Estadual Adão Pereira Nunes, 147 (48,20%) eram oriundas de pacientes do sexo masculino, enquanto que 132 (43,28%) eram do sexo feminino e 26 (8,52%) eram de pacientes recém-nascidos, internados principalmente na UTI neonatal.

Em relação ao setor solicitante de origem, o número e o respectivo percentual de amostras submetidas a esta análise, em ordem decrescente, foram assim classificados: CTI ADULTO com 73 (23,93%), seguido pelo SPA com 40 (13,11%), a PEDIATRIA com 30 (9,84%), a CLÍNICA CIRÚRGICA com 29 (9,51%), a CLÍNICA MÉDICA com 28 (9,18%), a CLÍNICA MÉDICA I com 26 (8,53%), o CETIP e

a UTI NEO com 23 (7,54% cada), as EMERGÊNCIAS juntas com 12 (3,93%), a MATERNIDADE com 11 (3,61%) e finalmente a CLÍNICA ORTOPÉDICA com 10 (3,28%).

No que diz respeito ao material biológico enviado ao Laboratório de Microbiologia, encontrou-se em primeiro lugar a URINA com 125 amostras (40,99%), seguida pelo SANGUE com 86 isolamentos (28,20%), os ASPIRADOS – traqueal e secreções em geral – com 46 (15,09%), os LÍQUIDOS BIOLÓGICOS diversos (pleural, ascítico, liquor, etc.) com 18 (5,90%) as PONTAS DE CATETER com 17 (5,57%), os SWABS em geral (nasal, retal, anal e umbilical) com 9 (2,95%) e por fim os FRAGMENTOS DE TECIDOS e SECREÇÕES GENITAIS, cada um com 2 amostras (0,65%).

Tratando-se de microrganismo isolado em função do comportamento frente à coloração de Gram, 175 amostras (57,38%) eram provenientes de bactérias Gram-negativas (140 de enterobactérias e o restante de microrganismos denominados não-fermentadores). Logo, os 130 isolados restantes eram de organismos Gram-positivos.

Nas TABELAS 1 e 2 apresentam-se todas as bactérias isoladas no Laboratório de Microbiologia e utilizadas na realização deste trabalho, e sua distribuição quantitativa (n) e percentual (%) respectivo, de acordo com o grupo morfológico pertencente:

TABELA I
Bastonetes gram-negativos isolados para tsa com ertapenem

GRUPO	1	ENTEROBACTÉRIAS	GRUPO	2	BGN NÃO-FERMENTADORES
MICROORGANISMO	n	%	MICROORGANISMO	n	%
<i>Escherichia coli</i>	72	51,43	<i>Pseudomonas sp.</i>	17	48,57
<i>Klebsiella sp.</i>	38	27,15	<i>Acinetobacter sp.</i>	15	42,86
<i>Proteus sp.</i>	13	9,29	<i>S. maltophilia</i>	02	5,71
<i>Enterobacter sp.</i>	07	5,00	<i>Burkholderia cepacia</i>	01	2,86
<i>Hafnia alvei</i>	03	2,14			
<i>Morganella morganii</i>	03	2,14			
<i>Serratia sp.</i>	02	1,43			
<i>Citrobacter sp.</i>	01	0,71			
<i>Providencia sp.</i>	01	0,71			
TOTAL	140	100,00		35	100,00

TABELA II
Cocos gram-positivos (grupo 3) isolados para tsa com ertapenem

MICROORGANISMO	n	%
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	54	41,54
<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	47	36,15
<i>Enterococcus sp.</i>	20	15,38
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	04	3,08
<i>Micrococcus sp.</i>	02	1,54
<i>Streptococcus do grupo viridans</i>	02	1,54
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	01	0,77
TOTAL	130	100,00

DISCUSSÃO

Em relação ao exposto na TABELA 1, todo o grupo de enterobactérias testado mostrou-se extremamente sensível ao teste com ertapenem. Entretanto, as três amostras isoladas de *H. alvei* comportaram-se como resistentes ao teste “n vitro”, cabendo maiores estudos para explicar o porque.

No grupo estudado pertencente aos bastonetes Gram-negativos ditos não-fermentadores, todas as bactérias isoladas apresentaram-se resistentes frente ao teste com o antibiótico, variando apenas no tamanho do halo de leitura (0-10 mm) entre eles.

No que diz respeito aos microrganismos testados na TABELA 2, todos comportaram-se como sendo sensíveis ao teste com ertapenem, à exceção dos *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina (MRSA) e os *Enterococcus sp.*

CONCLUSÃO

Deste trabalho, pode-se concluir que a utilização do ertapenem nos diferentes materiais biológicos estudados ainda possui uma similaridade com o relatado na literatura. O fato de haver-se encontrado três isolados de *H. alvei*, repetiu-se, carece de maiores estudos. Até mesmo em relação aos microrganismos Gram-positivos, a sensibilidade ao teste com ertapenem foi verificada em todos os gêneros bacterianos relacionados na bibliografia, assim como a resistência.

Espera-se que se tenha contribuído para um melhor conhecimento sobre este novo antibiótico e que este ensaio sirva como exemplo para outros testes futuros.

A utilização do ertapenem, talvez em um curto espaço de tempo, venha a minimizar os custos hospitalares e a permanência dos pacientes em suas unidades, quando se está falando de tratamento primário, na raiz do problema.

AGRADECIMENTOS

A Merck, Sharp & Dohme pelas doações dos discos do antibiótico usado no teste e de bibliografia auxiliar.

A direção do Hospital Estadual Adão Pereira Nunes pela utilização dos dados do Laboratório de Microbiologia.

REFERÊNCIAS

1. ALVES, J.G.; A.M. & BARBI, P.S. Infecções do trato urinário. JBM 75 (5-6): 53-66, 1998.
2. BIOBRÁS. Manual de Produtos e Procedimentos Microbiológicos, 1987, 35 p.
3. DINUBILE, M.J. & LIPSKY, B.A. Complicated infectious of skin and skin structures: when the infection is more than skin deep. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53 (supplement S2): ii 5-ii 6, 2004.
4. FRIEDLAND, I. Ertapenem: revisão clínica. Reunião Científica Merck, Sharp & Dohme, p. 2-4, 2003.
5. FRIEDLAND, I. Resistência antimicrobiana dos carbapênicos. Reunião Científica Merck, Sharp & Dohme, p. 11-16, 2003.
6. GOLDSTEIN, E.J.C. Introduction. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 53 (supplement S2): ii5-ii6, 2004.
7. GOLDSTEIN, E.J.C. & SNYDINAN, D.R. Intra-abdominal infections: review of the bacteriology, antimicrobial susceptibility and the role of ertapenem in their therapy, 53 (supplement S2): ii29-ii36, 2004.
8. HAMMOND, M.L. Ertapenem, a group 1 carbapen with distinct antibacterial and pharmacological properties, 53 (supplement S2): ii7-ii9, 2004.
9. LA MAZA, L. M. et al. Atlas de Diagnóstico Microbiológico. Artmed, Porto Alegre, p. 107-112, 2004.
10. MANSHIP, G.H.K. Resistência antimicrobiana: temas atuais – A importância da heterogeneidade antimicrobiana. Reunião Científica Merck, Sharp & Dohme, p. 5-10, 2003.
11. MAZUSKI, J.E.; SAWYER, R.G.; NATHENS, A.B.; DIPIRO, J.T.; SCHEIN, M.; KUDSK, K.A. & YOWLER, C. The surgical infection society guidelines on an-

- timicrobial therapy for intra-abdominal infections: an executive summary. Vol. 3(3): 161-173, Mary Ann Liebert, Inc., 2002.
12. MERCK, SHARP & DOHME. Invanz (ertapenem sódico, MSD). Monografia do produto, 2004.
 13. NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100-S14, vol. 24(1), 2004.
 14. NIX, D.E.; MAJUMDAR, A.K. & DINUBILE, M.J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ertapenem: na overview for clinicians. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53 (supplement S 2): ii23-ii28, 2004.
 15. ODA, L.M. & AVILA, S.M. Biossegurança em laboratórios de saúde pública. Curso da Fundação Oswaldo Cruz, 75 p., 2002.
 16. OPLUSTIL, C.P. et al. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. Sarvier, São Paulo, p. 197-220, 2004.
 17. ORTIZ-RUIZ, G.; VETTER, N.; ISAACS, R.; CARIDES, A.; WOODS, G.L. & FRIEDLAND, I. Ertapenem versus ceftriaxone for the treatment of community-acquired pneumonia in adults: combined analysis of two multicentre randomized, double-blind studies. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53 (supplement S2): ii59-ii66, 2004.
 18. PICAZZO, J.J. Aspectos gerais da infecção intra-abdominal. Infectious Diseases in Clinical Practice, 2003.
 19. PLAST LABOR. Manual de Meios de Cultura, 2003.
 20. SALVINO, C.R. Padronização do antibiograma e detecção de resistência bacteriana. Curso SBAC, 35 p., 2000.
 21. SOLOMKIN, J.; TEPLER, H.; GRAHAM, D.R.; GESSER, R.M.; MEIBOHM, A.R.; ROY, S. & WOODS, G.L. Treatment of polymicrobial infectious: post-analysis of three trials comparing ertapenem and piperacillin-tazobactam. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53 (supplement S2): ii51-ii57, 2004.
 22. TELLADO, J.M. Evidências atuais do tratamento antimicrobiano na infecção intra-abdominal. Infectious Diseases in Clinical Practice (Suplemento Especial): 18-22, 2003.
 23. TEPLER, H.; GESSER, R.M.; FRIEDLAND, I.A.; WOODS, G.L.; MEIBOHM, A.; HERMAN, G.; MISTRY, G. & ISAACS, R. Safety and tolerability of ertapenem. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53 (supplement S2): ii 75-ii81, 2004.
 24. TICE, A.D. Ertapenem: A new opportunity for outpatient parenteral antimicrobial therapy. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53 (supplement S2): ii83-ii86, 2004.
 25. TRABULSI, L.R. & ALTERTHUM, F. Microbiologia, 4a. edição, RJ, Atheneu, 2004, p. 91-97.
 26. WELLS, W.G.; WOODS, G.L.; JIANG, Q. & GESSER, R.M. Treatment of complicated urinary tract infection in adults: Combined analysis of two randomized, double-blind, multicentre trials comparing ertapenem and ceftriaxone followed by appropriate oral therapy. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53 (supplement S2): ii 67-ii74, 2004.
 27. WEXLER, H.M. In vitro activity of ertapenem: review of recent studies. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53 (supplement S2): ii 11-ii21, 2004.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Dr. SÉRGIO BARBOZA DOS SANTOS
RUA DR. THOUZET 600 – BL. 12/2 – APT 301
PETRÓPOLIS – CEP: 25650-060
E-MAIL: sergiobarbozasantos@bol.com.br

IFCC WORLTLAB

Fortaleza - Brasil

20º Congresso Internacional de Bioquímica e Medicina Laboratorial

35º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas

8º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

28 de setembro - 2 outubro/2008

Local:

Centro de Convenções do Ceará

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 (unitermos) e keywords (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 de Infecção Urinária em Gestantes no Primeiro Trimestre de Gravidez*

Evaluation of Non Syntomatic Urinary Infection in Pregnants in the First Trimester of Pregnancy

JACOCIUNAS, Laura Vicedo¹ & PICOLI, Simone Ulrich²

RESUMO - Objetivos: Avaliar a presença de infecção urinária assintomática em gestantes no primeiro trimestre de gravidez, uma vez que ela pode levar a complicações como o parto prematuro do bebê e hospitalização da gestante.

Métodos: Foi realizada urocultura de urina de 100 grávidas que estivessem no primeiro trimestre de gestação e que não apresentassem qualquer sintoma de infecção urinária. Naquelas em que o resultado foi positivo para infecção, foi feita a identificação da bactéria envolvida e, posteriormente, o perfil de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos, uma vez que este constitui uma ferramenta importante para dirigir o tratamento da infecção.

Resultados: Da população avaliada, 16% apresentou bacteriúria assintomática, sendo *Escherichia coli* o agente isolado com maior frequência.

Conclusão: Deve-se submeter gestantes à exames de triagem para bacteriúria assintomática através da urocultura, a fim de se descobrir infecções e trata-las precocemente. Concluiu-se também, que *E. coli* continua sendo o agente mais comumente isolado na urina.

PALAVRAS-CHAVE - bacteriúria assintomática, infecção urinária, gestação.

SUMMARY - Objectives: To evaluate the presence of assintomatic urinary infection in pregnant in the first trimester of pregnancy, a time that it can take the complications as the premature childbirth of the baby and pregnancy hospitalization.

Methods: Uroculture of piss of 100 pregnant was carried through that were in the first trimester of gestation and that they did not present any symptom of urinary infection. When the result was positive for infection, the identification of involved bacterium was made. And them was made the profile of susceptibility for antimicrobial agents, a time that this constitutes an important tool to direct the treatment of the infection.

Results: In the evaluated population, 16% presented assintomatic bacteriúria, being *Escherichia coli* the most frequently isolated agent.

Conclusion: It must be submitted gestantes to the examinations of selection for non syntomatic bacteriuria through the urocultura, in order to uncover infections and treats them precociously. We also concluded, that *E. coli* continues being the agent more isolated in piss.

KEYWORDS - non syntomatic bacteriuria, urinary infection, gestation.

INTRODUÇÃO

A infecção do trato urinário constitui uma das principais causas de consulta na prática médica, perdendo apenas para as infecções respiratórias. Ela pode atingir pessoas de qualquer sexo e idade, mas é mais freqüente em mulheres uma vez que a uretra feminina é mais curta que a masculina e localiza-se próxima ao ânus, podendo ocorrer contaminação do trato urinário através das fezes^{5,9,15,17}. Outros fatores também podem contribuir para a infecção tais como a presença de cálculos renais, deformidades no aparelho urinário, contato com material infectado durante exame instrumental da bexiga, obstruções da uretra, entre outros^{2,5,9,15,17,18}.

Normalmente a urina é estéril, ou seja, totalmente livre de germes, logo a presença de bactérias na urina poderá levar a uma infecção urinária. Entre os principais agentes envolvidos na infecção do trato urinário estão *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp. e *Enterococcus* sp., sendo *E. coli*, o microrganismo mais comumente isolado^{1,2,3,4,5,6,9,10,11,12,13,14,17,18,19,21,22,23}.

Na gestação, a infecção urinária é de grande importância em função de sua elevada incidência neste período da vida da mulher. É a terceira intercorrência clínica mais comum na gestação, acometendo de 10 a 12% das grávidas, sendo que a maioria destas infecções ocorre no primeiro trimestre da gravidez. Esta infecção pode contribuir para a mortalidade materno-infantil^{8,9,10,17}.

Em gestantes, a infecção urinária é ainda mais preocupante quando assintomática pois, justamente por passar despercebida, esta condição pode levar ao parto prematuro do bebê e em hospitalização da gestante. A bacteriúria assintomática no início da gravidez é, também, um risco para uma subsequente pielonefrite e, por isso, gestantes devem ser acompanhadas principalmente durante o primeiro trimestre de gravidez, realizando urocultura. Caso possuam bacteriúria, devem ser tratadas a fim de diminuir o risco de pielonefrite aguda e prematuridade^{6,7,8,10,14,18,23}. Quando sintomática a infecção também é importante, porém é de diagnóstico mais rápido devido à presença de sintomas, que se definem de acordo com o tipo de infecção que se estabeleceu no trato urinário da gestante. A suspeita de infecção urinária sintomática se dá pela micção freqüente, ardência, dor lombar, náuseas, vômitos, sangue na urina e febre^{2,11,23}.

As infecções urinárias são normalmente causadas por bactérias da microbiota intestinal que contaminam o trato urinário. Estas bactérias são encontradas na urina quando se rompe o equilíbrio entre a sua virulência e a defesa do organismo. Na gravidez, a urina é normalmente mais rica em nutrientes (glicose, aminoácidos) e vitaminas, o que propicia um meio de cultura mais rico, facilitando o crescimento das bactérias. Também ocorre com freqüência uma dilatação do trato urinário, criando condições de estase urinária, favorecendo o crescimento bacteriano e a instalação da infecção. Na gravidez, o aumento do útero, ao ocupar mais espaço, pode obstruir parcialmente o ureter e criar, também, condições de estase urinária^{2,9,17}.

Recebido em 25/04/2006

Aprovado em 13/12/2006

*Centro Universitário Feevale

¹Biomédica, Pós-graduanda em Toxicologia, Responsável Técnico Científico da Divisão de Biologia Médica do IPB-LACEN/RS

²Farmacêutica, Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Professora Adjunta do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Feevale/RS

Para evitar complicações, deve-se solicitar para toda a gestante, urocultura de três em três meses, a fim de descobrir infecções urinárias e tratá-las precocemente, evitando as complicações comentadas anteriormente^{6,9,11,14,17,18,20,23}.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostra deste estudo foi constituída pela urina de 100 gestantes com até 3 meses de gestação, que não apresentassem nenhum tipo de sintoma(s) de infecção urinária. Foram obtidas urinas de pacientes de um hospital e de consultórios ginecológicos de Novo Hamburgo, bem como de um posto de saúde da cidade de Campo Bom (RS).

A partir das amostras, foi feita a urocultura de acordo com técnica de quantificação, nos meios Ágar Mac Conkey e Ágar Sangue Azida, utilizando-se alça calibrada de 10µl. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas e após a incubação, as placas foram analisadas. Aquelas que apresentaram crescimento bacteriano, foram quantificadas, a fim de determinar a presença ou ausência de infecção urinária, sendo considerado positivas as placas que apresentaram crescimento superior a 50.000 UFC/mL. As placas que apresentaram contagens inferiores ficaram incubadas por mais 24 horas, quando foi realizada nova leitura. As placas que não apresentaram crescimento significativo foram consideradas negativas.

Nas placas positivas para infecção, foi realizada a identificação do(s) microrganismo(s): o crescimento em Agar Mac Conkey foi identificado através de provas bioquímicas (TSI, SIM, Citrato, Uréia, Fenilalanina, MIO, LIA), enquanto que as bactérias presentes no Agar Sangue Azida foram identificadas com provas específicas para cocos Gram positivos.

Além da identificação dos microrganismos, fez-se também o perfil de susceptibilidade dos mesmos frente aos agentes antimicrobianos (antibiograma), que foi realizado de acordo com o protocolo da técnica de difusão de Kirby-Bauer. Preparou-se um inóculo equivalente ao tubo 0,5 da escala de Mc Farland, semeou-se em placa de Ágar Müller Hinton e colocou-se os discos de antibióticos selecionados de acordo com a identificação bacteriana. Após, as placas foram incubadas à 35°C durante 18 horas e, posteriormente, foi feita a interpretação através da medida do halo do antibiótico, sendo classificado em sensível (S), intermediário (I) ou resistente (R). O antibiograma foi realizado de acordo com orientação dos protocolos do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Este foi uma ferramenta importante para o tratamento das infecções urinárias na população estudada.

RESULTADOS

Das 100 amostras analisadas, 16 apresentaram-se positivas mediante realização de urocultura, representando 16% dos casos.

Dentre as bactérias isoladas nas culturas positivas de urina, a predominância foi de *Escherichia coli*, que foi encontrada em 12 amostras, correspondendo a 76% do total de microrganismos identificados. As demais bactérias isoladas foram *Enterococcus* sp., *Klebsiella* sp., *Proteus mirabilis* e *S. saprophyticus* representando, cada um, 6% (Figura 1).

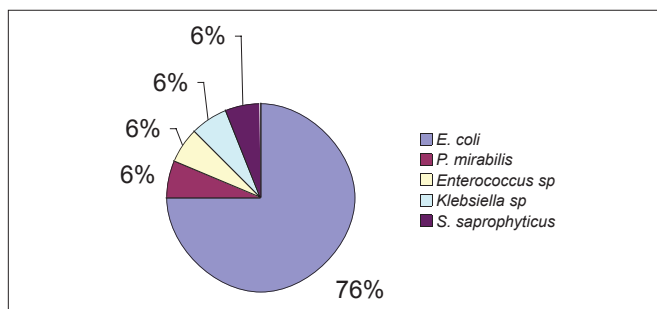


Figura 1: Bactérias isoladas em urina de gestantes assintomáticas.

DISCUSSÃO

A freqüência e a gravidade das infecções urinárias durante a gravidez vêm sendo cada vez mais reconhecidas. Os resultados desse estudo mostraram que 16% das gestantes apresentaram bacteriúria assintomática no primeiro trimestre de gestação, estando assim, acima dos dados encontrados na literatura, que indicava a presença de bacteriúria assintomática em apenas 2 a 9% das gestantes no mesmo período gestacional^{8,9,17}.

Este novo dado é preocupante uma vez que essa infecção na gravidez, se não tratada, poderá resultar em prognósticos ruins tanto para a mãe quanto para o bebê. Então, para reduzir as taxas de infecção urinária assintomática não diagnosticada e evitar suas complicações (tanto maternas como perinatais), alguns pontos devem ser considerados, sendo o principal deles a solicitação e realização precoce da urocultura. Esse exame fornece resultados confiáveis e seguros quanto à presença de microrganismos no trato urinário, possibilitando um tratamento pontual.

A partir das uroculturas positivas, o microrganismo mais freqüentemente isolado foi *E. coli*, mostrando, então, que este continua sendo o principal agente bacteriano em infecções urinárias. *Enterococcus* sp., *Klebsiella* sp., *Proteus mirabilis* e *S. saprophyticus*, isolados em menor freqüência foram compatíveis com dados da literatura^{1,2,3,4,5,6,8,9,10,11,12,13,14,16,17,18,19,20,21,22,23}.

Por fim, a partir dos resultados obtidos com os antibiogramas realizados foi possível estabelecer esquemas de tratamento para as bacteriúrias encontradas. Sugere-se que novas uroculturas sejam realizadas a fim de verificar se a infecção foi erradicada ou não, e também, para evitar e/ou prevenir bacteriúrias recorrentes, garantindo a saúde da gestante e do bebê.

REFERÊNCIAS

- CORDEIRO, Fernando; SANTOS, Rubia Michella dos; BLATT, Jucelene Marchi; BLATT, Solange Lúcia. Avaliação da leucocitúria em Processos Inflamatórios e Infeciosos: Relação e Interpretação Clínica. NewsLab. Edição 38, p118-126, ano VIII, 2000.
- CRUZ, Jenner; ROMÃO, Júnior João Edigio. Infecções do trato urinário. 3ª edição, São Paulo: Ateneu, 1998.
- DECHERNEY, Alan H; PERNOLL, Martin L. et al. Current Obstetric & Gynecologic Diagnosis & Treatment. 8ª edição USA: Appleton & Lange, 1994.
- DUARTE, Geraldo; MARCOLIN, Alessandra Cristina; GONÇALVES Carla Vitola; QUINTANA, Silvana Maria; BEREZOWSKI, Aderson Tadeu; NOGUEIRA, Antônio Alberto; CUNHA, Sérgio Pereira. Infecção Urinária na Gravidez: Análise dos Métodos para Diagnóstico e do Tratamento. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia. Rio de Janeiro, v.24 n.7 p.9-16, 2002.
- EDGE, Valerie; MILLER Mindi. Cuidados de Salud de La Mujer. Madrid: Mosby e Doyma Libros, 1995.

6. FAULHABER, Marcelo Henrique Wood; CRUZ, Maria Christina Pires da, et al. Microbiologia – Bioinforme 96 Laboratório Dr. Sérgio Franco. 1ª Edição, Rio de Janeiro: MHW Faulhaber, 1996.
7. FERNANDES, Antônio Tadeu, et al. Infecção hospitalar e suas Interfaces na Área da Saúde. São Paulo: Ateneu, 2000.
8. GOLDMAN, Lee; Bennett, J. Claude, Cecil. Tratado de Medicina Interna. 21ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
9. HALBRE, Hans Wolfgang. Tratado de Ginecologia. Volume 2, 3ª edição. São Paulo: Roca Ltda.
10. HEILBERG, Ita Pfeferman; SCHOR, Nestor. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário – Itu. Revista da Associação Médica Brasileira, v.49, n.1, p 4-15, 2003.
11. HENRY, John Bernard. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 19ª edição. São Paulo: Manole, 1999.
12. KOCH, Vera H.; ZUCCOLOTTO, Sandra M. C. Infecção do trato urinário: em busca das evidências. Jornal de Pediatria, v.79, n.21, p. 6-20, 2003.
13. KONEMAN, Elmer, JANDA, William M., SCHRECKENBERGER, Paul, C., WINN, Washington C.. Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido. 5ª Edição, Jr Rio de Janeiro: Medsi, 2001.
14. LINN, Jane Raquel; RAMOS, Augusto Marques; LOBATO, Oly. Abordagem Diagnóstica e Terapêutica da infecção Urinária em Adultos. Revista HCPA & Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. V.8, n.3, p195-200, 2000.
15. MCGEE, James O'D; ISAACSON, Peter G.; WRIGHT, Nicholas A.. Oxford Textbook of Pathology. Volume 2. Oxford: Oxford University Press, 1992.
16. OPUSTIL, Carmem Paz; ZOCCOLI, Cassia Maria; TOBOUTI, Nina Reiko; SINTO, Sumiko Ikura. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica. São Paulo: Editora Sarvier, 2000.
17. REZENDE, Jorge de; MONTENEGRO, Carlos Antônio Barbosa. Obstetrícia. 8ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
18. RIELLA, Miguel Carlos. Princípios de Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrólíticos. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2003.
19. ROZMAN, Ciril. Compêndio de Medicina interna. São Paulo: Editora Manole, 1999.
20. SILVA Carlos Henrique Pessoa de Menezes e. Bacteriologia: um texto ilustrado Rio de Janeiro: Eventos, 1999.
21. SPICER, W. Jonh. Clinical Bacteriology, Mycology and Parasitology. 1ª Edição, London: Churchill Livingstone, 2000.
22. STROHL, William A., ROUSE, Harriet, FISHER, Bruce, D.. Lippincott Illustrated Reviews: Microbiology. 1ª edição, Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
23. TORTORA, Gerard D.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L.. Microbiologia. 6ª Edição, Porto Alegre: Editora Artmed, 2000.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Profª Laura Vicedo Jacociunas
Rua Ameron Corrêa de Oliveira, 294
CEP. 91410-070 Porto Alegre - RS
Tel. (55) 3338-6802
E-mail: lauralvj@yahoo.com.br



Sociedade Brasileira de Análises Clínicas®

**IFCC WORLDLAB
Fortaleza - Brasil**

**20º Congresso Internacional de Bioquímica e Medicina Laboratorial
35º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
8º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica**

28 de setembro - 2 outubro/2008

**Local:
Centro de Convenções do Ceará**

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;

- 11) 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

- 11) 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

- 11) 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

Infecções urinárias de origem bacteriana diagnosticadas em Umuarama-Pr*

Bacterial urinary infections diagnosed in Umuarama-Pr

Juliana Carla Oliveira da Silva¹; Tais Fernanda Francisco Farias¹; Adrieli Lago Santos¹; Antonia Cristina Françolin¹ & Terezinha Inez Estivalet Svidzinski²

RESUMO - O trato urinário é um dos locais mais comuns de infecções bacterianas, particularmente em mulheres. As infecções urinárias podem ser definidas como infecções das estruturas do aparelho urinário que ocorrem, em geral, como consequência da presença ou colonização de bactérias veiculadas pela urina. O objetivo deste estudo foi determinar a frequência de infecções do trato urinário de origem bacteriana, em Umuarama-Paraná. Durante o período de janeiro a junho de 2004, foram analisadas 534 uroculturas, sem restrição de idade e sexo. Deste total, 98 (18,4%) foram amostras positivas e destas, 14,3% ocorreram em pacientes do sexo masculino e 85,7% do sexo feminino. *Escherichia coli* foi a bactéria mais frequente, sendo identificada em 84% das uroculturas; esses achados estão de acordo com a literatura. Além disso, observamos aumento das infecções urinárias durante os meses de outono e inverno, atribuído provavelmente à mudança dos hábitos, como por exemplo, menor ingestão de água no inverno.

PALAVRAS-CHAVE - Infecção urinária, diagnóstico, hábitos saudáveis.

SUMMARY - The urinary tract is one of the sites more common of bacterial infections, especially in women. They have been defined as infections of the any structures from urinary tract; in general they happen as a consequence of the presence of bacteria in urine or due previous bacterial colonization. The aim of this study was to determine the frequency of bacterial infections of the urinary tract in Umuarama-Paraná. From January to June of 2004, 534 urine cultures were analyzed, without restriction of age and sex. From this total, 98 (18,4%) were positive samples, 14,3% happened in male and 85,7% in female patients. *Escherichia coli* was the most frequent agent, being identified in 84% of the urine cultures, these data are in agreement with the literature. Besides, we observed increase of the urinary infections during the months of autumn and winter, probably attributed to the change of the habits, like smaller ingestion of water in the winter.

KEYWORDS - Urinary infection, diagnosis, healthy habits.

INTRODUÇÃO

As infecções urinárias podem ser definidas como infecções das estruturas do aparelho urinário: rins, ureteres, bexiga ou uretra; que ocorrem, em geral, como consequência da presença ou colonização de bactérias veiculadas pela urina (Santos et al., 1999). Embora a maioria das infecções seja aguda e de curta duração, elas contribuem para uma taxa significativa de morbidade na população. As infecções graves resultam em perda da função renal e em seqüelas graves irreversíveis (Mims et al., 1999).

Infecção do trato urinário (ITU) implica no comprometimento da bexiga (cistite), dos rins (pielonefrite) ou de ambos. Estas infecções podem ser clinicamente silenciosas (bacteriúria assintomática); todavia, com mais frequência, causam disúria, urgência, frequência da micção e (em caso de comprometimento renal) dor no flanco e febre. Os fatores predisponentes incluem: obstrução urinária, instrumentalização (especialmente cateterismo), refluxo vesicoureteral, prostatismo, anomalias congênitas, diabetes mellitus, imunossupressão; gravidez e atividade sexual nas mulheres (Robbins et al., 1991; Camargo et al., 2002; Heilberg et al., 2003). Segundo Hasenack et al. (2004), as causas das ITUs são complexas e influenciadas por fatores biológicos e comportamentais do hospedeiro, bem como pelas características infectantes dos uropatógenos.

A ITU é uma doença extremamente comum, tanto em infecções nosocomiais quanto comunitárias, ocorrendo em todas as idades, do neonato ao idoso (Santos et al., 2003). As ITUs são mais frequentes no sexo feminino, com picos de maior acometimento relacionado à intensidade de atividade sexual, e a outros fatores como a menopausa, de for-

ma que 48,0% das mulheres apresentam pelo menos um episódio de ITU ao longo da vida (Heilberg et al., 2003; Hasenack et al., 2004).

A etiologia das ITUs é, na grande maioria das vezes, bacteriana e essas infecções geralmente são adquiridas por via ascendente, da uretra para a bexiga podendo então atingir os rins. Ocasionalmente as bactérias que infectam o trato urinário podem atingir a corrente sanguínea e causar sepsis. Menos comumente a infecção resulta da propagação hematogênica até atingir os rins (Mims et al., 1999).

Urina é o principal material biológico recebido em laboratórios de microbiologia para a realização de cultura e é muito importante a identificação do agente com realização do antibiograma, visando-se assim a correta terapia antimicrobiana (Oplustil et al., 2001).

O diagnóstico laboratorial é baseado na cultura quantitativa de urina, contudo na rotina dos consultórios médicos ambulatoriais; o diagnóstico das ITUs não complicadas, em mulheres adultas, é feito, em geral, pela anamnese, já que a maioria destas infecções é acompanhada por sintomatologia típica. Porém, de acordo com Hasenack et al. (2004) os sintomas sugestivos de ITU (disúria, polaciúria, urgência urinária e dor lombar) nem sempre correspondem à esta infecção, podendo ocorrer em outras entidades nosológicas. Em nossa prática laboratorial levantou-se a hipótese de que, nos meses mais frios do ano, havia maior procura por exames microbiológicos para diagnóstico de infecções urinárias; e que aparentemente a frequência de culturas positivas também seria maior neste período do ano. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar a frequência de ITUs de origem bacteriana em pacientes atendidos em um laboratório de Umuarama, Paraná, Brasil e avaliar se existia tendência à sazonalidade na distribuição destas infecções.

Recebido em 18/07/2006

Aprovado em 13/12/2006

*Trabalho realizado no Laboratório Pronto Análise de Umuarama - PR

¹Pós-graduandas do curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Análises Clínicas, Universidade Paranaense - UNIPAR, Umuarama-Paraná, Brasil.

²Professor Adjunto, Universidade Estadual de Maringá - Departamento de Análises Clínicas, UEM/DAC - Maringá-Paraná, Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisados os resultados de todas as culturas de urina de pacientes do Laboratório Pronto Análise de Umuarama, Paraná, Brasil realizadas durante o período de janeiro a junho de 2004, sem restrições de sexo e idade. Os dados cadastrais dos pacientes foram obtidos através do programa Labplus®.

As amostras de urina foram coletadas em frascos estéreis e levadas imediatamente ao laboratório. Foram inoculadas em Agar Cled (Biobrás®) com alça calibrada de 1:1000 e incubadas durante 24 a 48 horas à temperatura de 35°C (Pilloneto et al., 1998).

Foram consideradas culturas positivas aquelas placas que evidenciaram crescimento acima de 10^5 (100.000 UFC/mL). A identificação das bactérias que desenvolveram nas culturas positivas foi realizada segundo (Pilloneto et al., 1998) para as Enterobactérias foram empregadas provas bioquímicas específicas (Newprov®). Os testes de catalase, coagulase e susceptibilidade à Novobiocina foram feitos para a diferenciação e identificação dos cocos Gram-positivos.

A análise estatística dos resultados foi processada através do programa Epi-Info v. 6.04 da Organização Mundial de Saúde (1996), pelo teste do Qui-quadrado de Mantel-Haenszel, com nível de significância de 5,0%.

RESULTADOS

Do total de 534 amostras de urina analisadas, apenas 98 (18,4%) foram positivas, enquanto que 436 (81,6%) não apresentaram crescimento de microorganismos, como apresentado na Tabela 1. Pode-se ainda notar que das 98 culturas positivas, 14,3% foram de pacientes do sexo masculino e 85,7% do sexo feminino.

A faixa etária de pacientes entre 31 a 40 anos foi a mais afetada (N=23), correspondendo a 24,0% dos pacientes com ITU (Figura 1).

Segundo a Tabela 2, no inverno, foi realizado maior número de uroculturas (52,0%) que no verão (48,0%); além disso, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre a frequência de uroculturas positivas encontradas no inverno e no verão: 22,0% e 15,0% respectivamente.

As bactérias isoladas das uroculturas estão apresentadas na Tabela 3, onde se observa maior frequência de ITUs por *Escherichia coli* (84,0%), seguida de *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas sp.* (3,0%) cada.

Dos 98 pacientes com cultura positiva, 05 (5,1%) apresentaram recidivas no decorrer destes meses de estudo, sendo a maioria mulheres adultas.

TABELA I

Uroculturas realizadas no Laboratório Pronto Análise de Umuarama-PR, no período de janeiro a junho de 2004, conforme o gênero do paciente.

Uroculturas realizadas			Das uroculturas positivas		
RESULTADO	N	%	GÊNERO	N	%
Positivas	98	18,4	Feminino	84	85,7
Negativas	436	81,7	Masculino	14	14,3
Total	534	100	Total	98	100

TABELA II

Resultado das culturas de urina realizadas em pacientes do Laboratório Pronto Análise de Umuarama-PR, no período de janeiro a junho de 2004.

Meses	Uroculturas Realizadas	Positivas	
		Nº	%
Janeiro	72	10	14,0
Fevereiro	72	09	13,0
Março	112	19	17,0
Total	256 (48,0%)	38	15,0
Abril	85	22	26,0
Maiο	84	16	19,0
Junho	109	22	21,0
Total	278 (52,0%)	60	22,0

TABELA II

Porcentagem das bactérias isoladas das uroculturas realizadas entre janeiro a junho de 2004, no Laboratório Pronto Análise, Umuarama - PR

Bactérias	%
<i>Escherichia coli</i>	84,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,0
<i>Pseudomonas sp.</i>	3,0
<i>Streptococcus sp.</i>	2,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,0
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1,0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2,0
<i>Serratia liquefaciens</i>	1,0
<i>Proteus mirabilis</i>	3,0

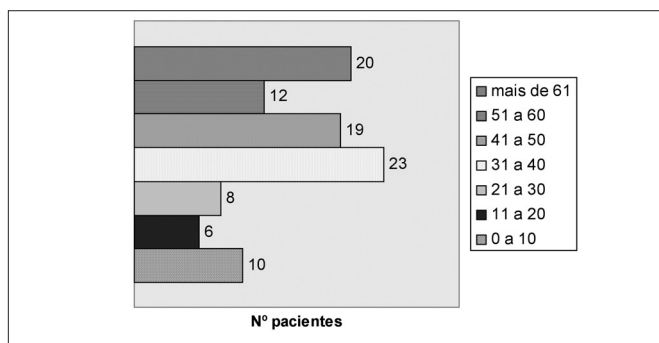


FIGURA 1- Idade (em anos) dos pacientes atendidos no Laboratório Pronto Análise de Umuarama-PR com urocultura positiva no 1º semestre de 2004

DISCUSSÃO

No presente estudo a frequência de uroculturas positivas foi de 18,4%, este dado numa análise superficial parece baixo, contudo, está de acordo com Souza Jr. et al. (2004) que encontrou positividade de 19,4%.

O acometimento maior em pacientes do sexo feminino (85,7%) é comparável ao encontrado por Souza Jr. et al. (2004) (81,8%) e é comumente relatado pela maioria dos autores. A suscetibilidade da mulher às ITUs, se deve à uretra ser mais curta e a sua maior proximidade com o ânus e o vestibulo vaginal. No homem o maior comprimento uretral, maior fluxo urinário e o fator antibacteriano prostático são protetores (Heilberg et al., 2003; Hasenack et al., 2004; Souza Jr. et al., 2004).

ITU representa uma das doenças infecciosas mais comuns

durante a gestação, onde se nota a ocorrência de fatores que facilitam a mudança destas infecções de assintomáticas para sintomáticas (Souza Jr. et al., 2004).

Pôde-se observar que a faixa etária de maior ocorrência de ITU foi a de 31 a 40 anos. De fato, na vida adulta a incidência de ITU aumenta Heilberg et al. (2003). Souza Jr. et al. (2004), num estudo de 1271 uroculturas, obteve 15,4% de casos positivos em crianças de 0 a 3 anos e na faixa etária de 4 a 12 anos obteve o menor índice de infecção (2,0%); para os autores, também, as faixas etárias com maior incidência de infecção foram entre 13 e 50 anos (40,1%) e acima de 51 anos (42,5%).

Os maiores responsáveis pelas ITUs são os bacilos Gram-negativos da microbiota fecal pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, especialmente *Escherichia coli* que é o agente mais freqüente, independente da série estudada, seguido dos demais Gram-negativos, como *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Proteus sp.* e *Pseudomonas sp.* Entre as bactérias Gram-positivas, *Staphylococcus saprophyticus* parece ser mais freqüente em mulheres jovens, sexualmente ativas, enquanto que *S. epidermidis* está mais associado com ITU em pacientes hospitalizados (Mims et al., 1999; Santos et al., 1999; Camargo et al., 2002; Hasenack et al., 2004).

Dentre as bactérias isoladas neste estudo confirmou-se *E. coli* como a maior causadora de ITU (84,0%), percentual bastante elevado, superior ao encontrado por Souza Jr. et al. (2004) (62,3%) e Camargo et al. (2002) (67,6%). Santos et al. (2003) em um estudo de 2378 culturas de urina positivas encontrou freqüências de 74,0% para *E. coli*, 8,0% para *P. mirabilis* e 4,9% para *Enterococcus*. Hasenack et al. (2004) isolaram *E. coli* em 57,0% das uroculturas positivas, seguido de 14,3% de *P. mirabilis*, 14,3% de *Streptococcus sp.* e de *Enterococcus*.

Do total de 98 pacientes com ITU, 05 apresentaram recidivas, sendo na maioria mulheres adultas. As infecções recidivantes após o tratamento com antimicrobianos podem ocorrer pela mesma cepa infectante inicial ou ser ocasionada por uma nova infecção. Estima-se que 80,0% das mulheres com ITU tratada venham a apresentar recorrência (Santos et al., 1999; Souza Jr. et al. 2004).

A mudança das estações do ano implica em alterações dos hábitos, como, por exemplo, nota-se que no verão é mais freqüente a prática de exercícios físicos e é maior a ingestão de líquidos. É possível que a adaptação das pessoas a estas e a outras variações reflita em alterações fisiológicas. Muitos indivíduos relatam vivenciar maior freqüência urinária nos meses de inverno, contudo a explicação para o aumento das ITUs nos meses mais frios do ano ainda não está clara.

Segundo Mims et al. (1999), a menor ingestão de água implica na concentração da urina com todos os seus componentes (microorganismos, proteínas e outros metabólitos que atuam como meios de cultura, favorecendo o crescimento microbiano). Além disso, há diminuição do fluxo urinário que auxilia na eliminação de microorganismos da

uretra. Por outro lado, é importante notar que no verão ingere-se mais água, que é eliminada pela sudorese, concentrando os componentes urinários. No inverno, ao contrário, embora a ingestão de água diminua, ocorre poliúria, diluindo os constituintes da urina.

É possível que orientações mais adequadas referentes a hábitos saudáveis como boa alimentação, hidratação e prática regular de atividade física pudessem contribuir, também nos meses considerados mais frios, com melhor qualidade de vida da população. É importante entender que esses cuidados não estão associados unicamente com a estética e sim com a promoção à saúde da população.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às preciosas colaborações de Arthur Estivalet Svidzinski, Márcia Cristina Bispo, Sandra Ferreira Sartori e Ricardo Ferreira Farias.

REFERÊNCIAS

1. Camargo, C. B. S.; Pedro, C. C.; Lourenço, D. S.; Gironi, R. H. A.; Martinez, R. Infecção de vias urinárias na comunidade de Ribeirão Preto - SP: etiologia, sensibilidade bacteriana a antimicrobianos e implicações terapêuticas. Medicina, Ribeirão Preto, 35: 173-178, 2002.
2. Hasenack, B. S.; Marquez, A. DE S.; Pinheiro, E. H. T.; Guilherme, R. L.; Frasson, F. T.; Avelar, G. de S. Disúria e polaciúria: sintomas realmente sugestivos de infecção do trato urinário? RBAC, 36 (3): 163-166, 2004.
3. Heilberg, I. P.; Schor, N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário - ITU. Rev. Assoc. Med. Bras., 49 (1): 109-116, 2003.
4. Mims, C. A.; Playfair, J. H. L.; Roitt, I. M.; Wakelin, R.; Williams, R. W. Microbiologia médica. 2. ed. Manole: São Paulo, 1999.
5. Oplustil, C. P.; Hsiung, A.; Sakatami, E. T.; Mendes, C. M. Avaliação do cartão UID-3 do sistema Vitek para detecção de microrganismos em amostras de urina. Laes & Haes, 130: 108-116, 2001.
6. Pilonetto, M.; Pilonetto, D. V. Manual de Procedimentos Laboratoriais em Microbiologia - POPs em microbiologia. Microscience. 1998.
7. Robbins, S. L.; Cotran, R. S.; Kumar, V. Fundamentos de Robbins patologia estrutural e funcional. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1991.
8. Santos, R. C. V.; Lunardelli, A.; Castaman, T. A.; Nunes, F. B.; Pires, M. G. S.; Oliveira, J.R.; Wachter, P. H. Prevalência e perfil de sensibilidade de microrganismos em infecções do trato urinário. RBAC, 35 (1): 27-28, 2003.
9. Santos, S. R. dos S. R.; Amado, C. A. B.; Assef, S. M. Infecções urinárias. Arq. Ciênc. Saúde, 3 (1): 43-49, 1999.
10. Souza Jr, M. A. de.; Fernandez, L. G. Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos mais comercializados para o tratamento de infecção do trato urinário no ano de 2003 em Salvador-BA. NewsLab, 67: 96-104, 2004.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Antonia Cristina Françolin (Laboratório Pronto Análise)
Praça da Bíblia, 3600 - Umuarama - PR
Fone/fax: (44) 3622-4631 CEP: 87501-055
E-mail: prontoanalise@uol.com.br
julianacarla@hotmail.com

IFCC WORLDLAB

Fortaleza - Brasil
20º Congresso Internacional de Bioquímica e Medicina Laboratorial
35º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
8º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

28 de setembro - 2 outubro/2008

Local:
Centro de Convenções do Ceará

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

Avaliação endócrina e morfológica de transplante autólogo de ovários íntegros e fatiados em coelhas*

Endocrinologic and morphologic assessment of intact and sliced ovarian autologous transplantation in rabbits

Luiz Ronaldo Alberti¹; Leonardo de Souza Vasconcellos^{II} & Andy Petroianu^{III}

RESUMO - Os objetivos do presente trabalho foram avaliar aspectos morfológicos e endócrinos de transplantes ovarianos autógenos, fixados em posição ortotópica, na forma íntegra e fatiada, sem pedículo vascular. Foram utilizados 42 coelhos da raça Nova Zelândia Branca. No Grupo 1 (n=8) foi realizada apenas laparotomia e laparorrafia. No Grupo 2A (n=8), transplantou-se o ovário na forma íntegra, no Grupo 2B, transplantou-se o ovário na forma fatiada e no Grupo 2C (n=8), transplantou-se, de um lado, o ovário íntegro e, do outro lado, fatiado. Não houve anastomose vascular. Dosou-se o estradiol, a progesterona, o hormônio foliculo-estimulante e o hormônio luteinizante de cada animal no nono mês pós-operatório. Estudaram-se as morfologias macro e microscópica dos ovários, tubas e útero, de todas os animais. Foram utilizados os testes one-way ANOVA seguido pelo teste de Tukey-Kramer para comparar as dosagens hormonais, considerando $p < 0,05$. Os ovários transplantados estavam rodeados por tecido conjuntivo, bem vascularizado, mostrando folículos em diferentes estádios de desenvolvimento. A histologia tubária e uterina também foi preservada em ambos os grupos. A dosagem hormonal foi normal em todas as coelhas, indicando que o ovário transplantado estava funcionando do ponto de vista endócrino. Conclui-se que o transplante autólogo ortotópico de ovários, na forma íntegra ou fatiada, sem preservação do pedículo vascular é viável e preserva as funções endócrinas.

PALAVRAS-CHAVE - Histologia ovariana; Hormônios ovarianos; Transplante ovariano autólogo, Coelho.

SUMMARY - The objective of the present work was to assess endocrine and histological ovarian aspects of rabbits submitted to bilateral oophorectomy and orthotopic autologous intact and sliced ovarian transplantation without a vascular pedicle. 42 New Zealand White and California rabbits were studied. The ovaries were removed and orthotopically transplanted without vascular anastomoses: Group 1 (n = 8), only laparotomy and laparorrhaphy were performed; Group 2A (n = 8) intact ovaries were reimplanted on both sides; Group 2B (n = 8) both ovaries were sliced and orthotopically reimplanted; Group 2C (n = 8), an intact ovary was reimplanted on one side and a sliced ovary on the other side. Estradiol, progesterone, follicle stimulating hormone and luteinizing hormone levels were assessed nine months after surgery. At the end of the experiment, morphologic aspect of the ovaries uterus and tubes were carried out. One-way ANOVA and the Tukey-Kramer tests compared the hormonal dosages. The significance was for $p < 0.05$. The ovary implants were surrounded by connective tissue; they were well vascularized, and presented follicles in different stages of development. Hormonal values were normal in all rabbits. Integer or sliced orthotopic autologous ovarian transplantation without vascular pedicle is viable in rabbits, was effective to preserve normal level of ovarian hormone.

KEYWORDS - Ovarian histology; Ovarian hormones, Autologous ovarian transplantation, Rabbit.

INTRODUÇÃO

Muitas pacientes com câncer sofrem perda iatrogênica da função ovariana, mesmo sem o ovário estar envolvido na doença, em decorrência de tratamento radioterápico e quimioterápico^{12,13}. Em outros casos, a ooforectomia é realizada em procedimentos sobre a pelve, mesmo sem haver inconveniência em sua manutenção. Essa conduta resulta em menopausa precoce e distúrbios funcionais, tais como disfunção sexual, níveis alterados de lipoproteínas, além de maior risco de osteoporose e de doenças cardíacas^{12,13,20,24}.

Uma alternativa fisiológica de manter a função hormonal em mulheres que precisam se submeter à retirada de ovários normais, nas quais a função regulatória do eixo hipotálamo-hipofisário está intacta e na ausência de doença auto-imune é o transplante ovariano. Diversas técnicas experimentais de auto-implante ovariano vêm sendo pesquisadas^{4,7}. A multiplicidade de espécies animais e de métodos estudados para a preservação da função ovariana resulta em informações conflitantes quanto à eficácia da preservação hormonal^{8,19,23}.

A utilização de tecidos ovarianos criopreservados e reimplantados em posição heterotópica é uma alternativa mais fisiológica de manter a função hormonal no pós-operatório tardio da retirada de ovários normais^{6,7,9,10,14}.

Os objetivos do presente trabalho foram avaliar aspectos morfológicos e endócrinos de transplantes ovarianos autógenos, fixados em posição ortotópica, na forma íntegra e fatiada, sem pedículo vascular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado de acordo com as recomendações das Normas Internacionais de Proteção aos Animais e do Código Brasileiro de Experimentação Animal (1988)¹¹, tendo sido aprovado pela Comissão de Ética do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Foram estudadas 42 coelhos (*Oryctogalus cuniculus*) da raça Nova Zelândia Branca, sendo 32 fêmeas e dez machos sabidamente férteis. No início do experimento, todos os coelhos estavam com 4 meses de idade, sexualmente maduros e com peso variando de 2450 g a 2700 g. Os animais

Recebido em 25/04/2006
Aprovado em 21/12/2006

*INSTITUIÇÃO: Departamentos de Cirurgia e de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.

^ICirurgião Geral, Mestre e Doutor em Medicina pelo Departamento de Cirurgia - UFMG.

^{II}Patologista Clínico, Mestre em Medicina, Doutorando em Medicina, Professor Substituto do Departamento de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da UFMG, Representante Científico do Departamento de Patologia Clínica da Associação Médica de Minas Gerais.

^{III}Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina - UFMG, Docente Livre da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, Docente Livre da Escola Paulista de Medicina - UNIFESP, Doutor em Fisiologia e Farmacologia, Pesquisador IA do CNPq.

provenientes do Biotério Central da Escola de Veterinária da UFMG foram mantidos em gaiolas individuais, onde receberam ração e água à vontade. No pré-operatório, todos permaneceram em adaptação e observação do estado de saúde por 20 dias. Após este período os animais foram mantidos em jejum pré-operatório de 12 horas.

As coelhas foram aleatoriamente distribuídas em:

Grupo 1: (n=8), animais submetidos apenas a laparotomia mediana e laparorráfia.

Grupo 2: transplante autólogo de ambos os ovários

Subgrupos 2A: (n=8): íntegro bilateral

2B: (n=8): fatiado bilateral

2C: (n=8): íntegro de um lado e fatiado do

outro lado

Todos os animais receberam antibioticoprofilaxia com cefadroxila (Cefamox; Bristol-Myers-Squibb, São Paulo) na dose de 50mg/kg dissolvida em 10ml de leite e administrada por cateter orogástrico trinta minutos antes do procedimento cirúrgico.

A anestesia foi induzida com injeção intramuscular na região glútea de cloridrato de quetamina (Ketalar®, Pfizer, São Paulo) a 5%, na dose de 50 mg/kg. Quando necessário, foi aplicado adicionalmente um quarto da dose inicial do anestésico. Durante todo o período anestésico, foram observadas as frequências cardíaca e respiratória, além da movimentação voluntária dos coelhos, com vista a detectar possíveis complicações.

Após tricotomia do abdome, realizou-se anti-sepsia com solução de polivinilpirrolidona (PVPI®) degermante, seguida por solução alcoólica de iodo a 2 %. A assepsia foi seguida pela colocação de campos operatórios.

Os animais do Grupo 1 foram submetidos a laparotomia mediana infra-umbilical, identificação do útero, das tubas uterinas e dos ovários. Em seguida, realizou-se laparorráfia com suturas contínuas em dois planos, aponeurose, com fio de poliglactina 2-0 (Vicryl®, Ethicon, São Paulo) e pele, com náilon 3-0 (Nylon®, Ethicon, São Paulo).

Nos animais do Grupo 2, através de laparotomia mediana infra-umbilical, realizou-se ooforectomia bilateral, com cuidado para preservar a integridade das tubas uterinas. Em seguida, os ovários foram reimplantados ortotopicamente sem anastomose vascular e fixados com um ponto de fio de náilon 5-0 (Nylon®, Ethicon, São Paulo), de acordo com os subgrupos seguintes: Subgrupo 2A – submetido a transplante autólogo bilateral ortotópico dos ovários íntegros, Subgrupo 2B – os ovários foram cortados longitudinalmente em três fatias de 2 mm de espessura com bisturi e, em seguida, foram transplantados ortotopicamente, Subgrupo 2C – transplantaram-se os ovários ortotopicamente, de um lado, na forma íntegra, e do outro, na fatiada.

Após o ato cirúrgico, as coelhas receberam ração e água previamente filtrada em recipientes próprios, *ad libitum* e foram mantidas em gaiolas individuais, em condições adequadas de higiene, ventilação e iluminação.

No nono mês após o procedimento cirúrgico, os animais foram novamente anestesiados e submetidos à segunda laparotomia. A veia cava abdominal foi identificada e puncionada para coleta sanguínea por sistema a vácuo (Vacutainer®, Becton Dickinson, Brasil). De cada animal, coletou-se 1ml de sangue venoso em frasco estéril para soro (tampa vermelha, com gel separador). As amostras sanguíneas coletadas foram imediatamente centrifugadas a 4000 rpm por 10 minutos e submetidas imediatamente aos exames laboratoriais. Foram dosados dois hormônios hipofisários: hormônio folículo-estimulante (FSH) e hormônio lutei-

nizante (LH), e dois hormônios gonadais: estradiol e progesterona, pelo método da imunofluorimetria, utilizando o aparelho de automação AutoDelfia™ (Wallac Ou, Finlândia). Os valores hormonais obtidos nas coelhas do Grupo 1 (controle) foram considerados como valores de referência para os demais grupos, tendo em vista que não houve estudo hormonal prévio nas coelhas operadas.

Após a coleta, todas as coelhas foram mortas por choque hemorrágico, após anestesia profunda com quetamina (100mg/kg). As cavidades torácica e abdominal, bem como seus órgãos, foram cuidadosamente estudados. Retirou-se o útero, os ovários e as tubas uterinas de todas as coelhas. Fragmentos de 5 µm foram obtidos de cada estrutura, sendo parte deles fixados em solução de Bouin e outra parte em solução de formaldeído a 4% (formol a 10%). Os cortes foram fixados sobre lâminas de vidro e corados com hematoxilina e eosina (HE) para estudo histológico de rotina. A viabilidade ovariana foi avaliada baseada nos seguintes parâmetros histológicos: presença de angiogênese, qualificação dos folículos ovarianos e presença de corpos lúteos. Foram utilizados os testes one-way ANOVA seguido pelo teste de Tukey-Kramer para comparar as dosagens hormonais (estradiol, progesterona, hormônio folículo-estimulante e hormônio luteinizante). As diferenças foram consideradas significativas para valores correspondentes a $p < 0,05$.

RESULTADOS

Todos os animais recuperaram-se espontaneamente das cirurgias e sobreviveram durante os nove meses do experimento, sem intercorrências.

A Tabela 1 mostra os valores hormonais obtidos de todas as coelhas. Hormônios ovarianos foram detectados em todas as coelhas submetidas ao transplante autólogo. Não houve diferença entre as médias dos valores hormonais dos diversos subgrupos e as do Grupo-controle ($p > 0,05$).

À segunda laparotomia, a cavidade abdominal do Grupo 1 manteve-se com aspecto normal. Houve aderências entre a tuba e o ovário em duas coelhas. O útero e as tubas não mostraram outras alterações anatômicas.

Ao exame macroscópico, verificou-se que os ovários das coelhas do Grupo 2 (transplante autólogo) preservaram sua parte externa, sem fibrose ou reação inflamatória. Todavia, encontrou-se hidrossalpinge em dois animais, além de múltiplas aderências entre ovário, tuba e intestino nas outras duas coelhas. O útero de todos os animais tinha aspecto normal. O restante da cavidade abdominal permaneceu sem alterações. Não houve alterações macroscópicas nos demais órgãos abdominais.

Ao estudo histológico, verificou-se que os ovários tanto dos animais controle quanto dos reimplantados estiveram preservados, não havendo diferenças entre eles. Também não foram encontradas diferenças entre os ovários reimplantados íntegros ou fatiados. A viabilidade ovariana foi confirmada pela presença de angiogênese satisfatória, vários folículos em diferentes estádios de maturação, bem como corpos lúteos e cistos foliculares em proporções variáveis. Não foram identificados sinais de isquemia ou necrose.

A histologia tubária das coelhas do Grupo 1 foi normal, com microvilosidades bem desenvolvidas, trofismo preservado e ausência de sinais inflamatórios ou degenerativos. No Grupo 2, foram encontradas hidrossalpinge em quatro coelhas. Os demais animais apresentaram histoarquitetura tubária conservada.

A histoarquitetura uterina de todas as coelhas foi mantida. O endométrio evidenciou diversas fases de proliferação,

compatíveis com as fases do ciclo estral, indicando adequada produção hormonal.

TABELA II

Distribuição dos animais segundo os valores hormonais (média e desvio padrão da média) dosados nas coelhas controle e submetidas ao transplante autólogo ortotópico de ovários.

GRUPOS	ESTRADIOL (pg/ml)	PROGESTERONA (pg/ml)	FSH (UI/l)	LH (UI/l)
1	2.801±762	104.200±2.348	0,13±0,05	0,16±0,07
2A	2.500 ± 950	109.300 ± 5500	0,30 ± 0,20	0,30 ± 0,20
2B	2.850 ± 700	105.400 ± 3500	0,20 ± 0,10	0,20 ± 0,10
2C	2.950 ± 850	106.100 ± 3300	0,30 ± 0,20	0,20 ± 0,10

G1 – Grupo controle

G2A – Transplante ovariano autólogo na forma íntegra

G2B – Transplante ovariano autólogo na forma fatiada

G2C – Transplante ovariano autólogo na forma íntegra de um lado e fatiada, de outro

FSH: Hormônio folículo-estimulante

LH: Hormônio luteinizante

DISCUSSÃO

Diversas técnicas experimentais de auto-implante ovariano vêm sendo pesquisadas^{16,17}. A multiplicidade de espécies animais e de métodos estudados para a preservação da função ovariana resulta em informações conflitantes quanto à eficácia da manutenção hormonal^{21,22}. Optou-se pelo emprego de coelha como animal de experimentação a partir da observação de sua boa capacidade reprodutiva e da simplicidade do procedimento cirúrgico sem a necessidade de material especial, considerando também uma linha de pesquisa desenvolvida por nós no Departamento de Cirurgia da UFMG referente a transplante de órgãos e tecidos^{18,26}.

Utilizou-se a quetamina pelas suas características de induzir estado de sedação, imobilidade e analgesia acentuada com efeito de anestesia dissociativa com larga margem de segurança e fácil controle do plano anestésico.

No presente estudo, não houve diferença nas concentrações hormonais entre o Grupo 1 (controle) e o Grupo 2 (submetidos a cirurgia dos ovários). Do mesmo modo, o estudo microscópico ovariano em ambos os grupos não mostrou evidências que sugerissem uma hiper ou hipofunção hormonal, como por exemplo, hipotrofia ou hiperplasia endometrial, fato esse comprovado pelas dosagens dos hormônios hipofisários e gonadais, que se mantiveram dentro da faixa de normalidade.

O auto-implante ovariano ortotópico avascular foi um bom método para completa recuperação das funções ovarianas. O suprimento sanguíneo é um fator importante para manter a vitalidade tanto dos auto-implantes quanto dos transplantes de ovário. Os resultados do presente experimento confirmam que a função ovariana pode ser preservada após castração seguida de implante ovariano sem a realização de anastomose vascular em coelhos. Esse fato também fora constatado previamente em ratos^{1,2,25}. A ausência de anastomose vascular não interferiu na vitalidade dos ovários, que foram envolvidos por neoformação vascular adequada. Não foram detectadas complicações decorrentes da falta do restabelecimento vascular cirúrgico, pois nenhum dos animais apresentou sinais de isquemia ovariana. Esses achados contradizem alguns autores que consideram fundamental a revascularização cirúrgica dos enxertos ovarianos para a manutenção de sua funcionalidade^{5,14}. Por

outro lado, existem estudos que constataram ser a anastomose do pedículo vascular desnecessária para a manutenção da vitalidade e função ovariana. A intensa neovascularização que se forma em torno do ovário parece ser suficiente para conservar sua vitalidade^{7,24}. Os elementos responsáveis pela estimulação da angiogênese ainda permanecem desconhecidos²⁴. De acordo com a literatura, o tecido ovariano é uma rica fonte de fatores angiogênicos, que estimulam a rápida migração de células endoteliais nos casos de transplantes, o que leva ao restabelecimento da circulação sanguínea⁷. Dissen *et al.*⁸ implantaram córtex ovariano adjacente à veia jugular e verificaram revascularização do enxerto 48 horas após o procedimento. Esse fenômeno acompanhou-se de aumento na expressão de agentes angiogênicos específicos, principalmente do fator de crescimento derivado do endotélio. Esses autores também sugeriram que a secreção de gonadotropinas desempenha um papel significativo na resposta vascular. Dentre as gonadotropinas hipofisárias, o FSH parece ser o mais importante, devido ao estímulo à mitose celular da granulosa e à inibição de sua apoptose. O tratamento de folículos antrais de ratos com doses crescentes de FSH causam uma supressão da fragmentação do DNA dose-dependente, atingindo a supressão máxima de 60%⁵. Em decorrência da privação de fatores mitogênicos e tróficos, como as gonadotropinas e os esteróides ovarianos, há lesão por apoptose das células do ovário. A dosagem de FSH manteve-se dentro dos limites da normalidade nos grupos estudados. Um fator descrito como de importância para a sobrevivência e desenvolvimento folicular após a retirada cirúrgica dos ovários é a temperatura média de conservação do tecido. Ao contrário de outros modelos de transplante de órgãos, o tecido ovariano à temperatura em torno de 37°C mostra melhor conservação do órgão se comparado ao armazenamento em gelo. É possível que os oócitos primordiais e folículos primários tenham a mesma sensibilidade a temperaturas baixas, assim como os oócitos e folículos maduros¹⁹. Durante o ato operatório, tomou-se o cuidado de realizar o reimplante dos ovários logo após a ooforectomia, com o intuito de se manter a temperatura ovariana o mais próximo da fisiológica, minimizando as possíveis perdas de células ovarianas.

A avaliação macroscópica e microscópica não mostrou diferenças quanto a preservação ovariana quando se implantava na forma íntegra ou fatiada. Por outro lado, em estudo prévio com ratas, os resultados hormonais foram melhores no grupo de reimplante ovariano fatiado^{1,2,25}. Contudo, essa diferença não foi verificada na coelha. Cabe, portanto, considerar que o implante ovariano fatiado possa ser mais eficaz do que o íntegro. Diante da falta da uniformidade entre os resultados das duas espécies estudadas neste trabalho e aparente ausência de subsídios da literatura para essa questão, é fundamental prosseguir nesta linha de pesquisa, em busca da resposta a esse problema.

O período da coleta sanguínea para as dosagens hormonais coincidiu com a fase de puerpério em todas as coelhas do Grupo-controle. O mesmo não ocorreu com os animais do Grupo 2, o que explica a maior variação hormonal entre os animais de mesmo subgrupo. A dosagem de FSH nas coelhas estudadas não mostrou diferença com significância estatística entre os grupos 1 e 2. Esse fato mostra que os ovários reimplantados mantinham produção hormonal de estradiol dentro da normalidade, já que, por mecanismo de retroalimentação, qualquer diminuição da produção de estradiol estimularia a liberação do FSH.

A secreção basal de LH é suprimida pela combinação da

progesterona secretada pelo corpo lúteo e do estradiol derivado dos folículos antrais⁶. Como a concentração de LH manteve-se dentro dos limites da normalidade nos animais submetidos ao transplante ovariano autólogo, tal fato comprova adequada produção hormonal nos ovários estudados. A Tabela 1 mostra que a média dos valores hormonais nos animais submetidos ao reimplante estiveram dentro da variação normal para progesterona, estradiol, FSH e LH. Portanto, a viabilidade dos ovários reimplantados foi evidenciada pela presença de hormônios séricos circulantes, o que valida o método utilizado como alternativa para preservação hormonal em coelhas.

CONCLUSÃO

O transplante autólogo ortotópico de ovários, na forma íntegra ou fatiada, sem preservação do pedículo vascular é viável e preserva as funções endócrinas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq e à FAPEMIG pelos auxílios financeiros que permitiram a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Alberti, L.R.; Vasconcellos, L.S.; Barbosa, J.F.; Petroianu, A. Implante autólogo ovariano no omento maior - Estudo Experimental. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 24: 187-192, 2002.
2. Alberti, L.R.; Vasconcellos, L.S.; Petroianu, A.; Nunes, M.B. Avaliação morfofuncional do auto-implante ovariano no retroperitônio. *Medicina (Ribeirão Preto).* 35: 30-35, 2002.
3. Altman, D.G.; Gardner, M.J. Means and their differences. In: Altman, D.G.; Machin, D.; Bryant, T.N.; Gardner, M.J. *Statistics with confidence.* Br Med J Books, England, 2000. p 28-35.
4. Baber, R.; Adbella, H.; Studd, F. The premature menopause. *Prog Obstet Gynaecol.* 9: 209-226, 1991.
5. Callejo, J.; Jauregui, M.T.; Valls, C. Heterotopic ovarian transplantation without vascular pedicle in syngeneic Lewis rats. *Fertil Steril.* 72: 513-517, 1999.
6. Candy, C.J.; Wood, M.J.; Whittingham, D.G. Follicular development in cryopreserved marmoset ovarian tissue after transplantation. *Hum Reprod.* 10:2334-2338, 1995.
7. Corleta, H.E.; Corleta O, Capp E, Edelweiss MI. Subcutaneous autologous ovarian transplantation in Wistar rats maintains hormone secretion. *Fertil Steril* 1998; 70: 16-9.
8. Dissen, G.A.; Lara, H.E.; Fahrenbach, W.H.; Costa, M.E.; Ojeda, S.R. Immature rat ovaries become revascularized rapidly after autotransplantation and show gonadotropin-dependent increase in angiogenic factor gene expression. *Endocrinology.* 134: 1146-1154, 1994.
9. Gosden, R.G. Restoration of fertility in sterilized mice by transferring primordial ovarian follicles. *Hum Reprod.* 5: 499-504, 1990.
10. Green, C.J.; Simpkin, S.; Grimaldi, G. Pregnancy after autografting and allografting vascularized ovaries and en bloc vascularized ovaries with adnexa

- in rabbits. *Br J Obstet Gynaecol.* 89:645-651, 1982.
11. Hooff, C. Immoral and moral uses of animals. *N Eng J Med.* 302: 115-118, 1980.
 12. Mackie, E.J.; Radford, J.A.; Shalet, S.M. Gonadal function following chemotherapy for childhood Hodgkin's disease. *Med Pediatr Oncol.* 27: 74-78, 1996.
 13. Marmor, D. Fertility after antimitotic treatments. *Bull Cancer.* 84: 764-769, 1994.
 14. Namba, Y.; Yamamoto, M.; Atrishima, K.; Eguchi, Y. Suppressive effect of perinatal tests on the differentiation of fetal ovaries transplanted into adult males in the rat. *J Anat.* 191: 31-38, 1997.
 15. Nugent, D.; Meirou, D.; Brook, P.F. Transplantation in reproductive medicine. *Hum Reprod.* 3: 267-280, 1997.
 16. Parkers, A.S. The rise of reproductive endocrinology. *J Endocrinol.* 1: 20-32, 1966.
 17. Parks, J.E. & Ruffing, N.A. Factors affecting low temperature survival of mammalian oocytes. *Theriogenology.* 37: 59-72, 1992.
 18. Petroianu, A.; Vasconcellos, L.S.; Alberti, L.R.; Castro, L.P.F.; Leite, J.M. Natural pregnancy in rabbit that underwent oophorectomy and orthotopic allogeneic or autologous ovarian transplantation. *Fertil Steril.* 77: 1298-1299, 2002.
 19. Ramírez, G.; Navarte, J.; Bittle, P.A.; Ayers-Chastain, C.; Dean, S.E. Cyclosporine-induced alterations in the hypothalamic hypophyseal gonadal axis transplant patients. *Nephron.* 58: 27-32, 1991.
 20. Resende, C.A.L.; Gobbi, H.; Geber, S. Aspectos embriológicos, Histológicos, Anatômicos e Fisiológicos dos Ovários. In: Coronho, V.; Petroianu, A.; Santana, E.M.; Pimenta, L.G. *Tratado de Endocrinologia e Cirurgia Endócrina*, 1ª edição, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2001. p. 1060-1095.
 21. Rone, J.D.; Halvorson, L.M.; Goodman, A.L. Ovarian angiogenesis in rabbits. *J Reprod Fertil.* 97: 359-365, 1993.
 22. Sanders, J.E.; Buckner, C.D.; Amos, D. Ovarian function following marrow transplantation for aplastic anaemia or leukaemia. *J Clin Oncol.* 6: 813-817, 1988.
 23. Seethalakshmi, L.; Flores, C.; Carboni, A.A.; Bala, R.; Diamond, D.A.; Menon, M. Cyclosporine, its effects on testicular function and fertility in the prepubertal rat. *J Androl.* 11: 17-24, 1990.
 24. Simões, P.M.; Machado, J.A. Complicações das cirurgias sobre os ovários. In: Coronho, V.; Petroianu, A.; Santana, E.M.; Pimenta, L.G. *Tratado de Endocrinologia e Cirurgia Endócrina*, 1ª edição, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2001. p. 1126-1128.
 25. Vasconcellos, L.S.; Alberti, L.R.; Petroianu, A.; Nunes, M.B. Viabilidade e função endócrina de auto-implantes ovarianos com drenagem pela veia porta ou cava. *Reprod Clim.* 16:259-263, 2001.
 26. Vasconcellos, L.S.; Petroianu, A.; Alberti, L.R.; Leite, J.M.; Castro, L.P.F. Gestação após auto-implante ovariano avascular em coelha. *Reprod e Clim.* 16: 273-276, 2002.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Leonardo Vasconcellos
Av. Cristóvão Colombo, no 506, Apto 51, Savassi.
CEP 30140-150, Belo Horizonte, Minas Gerais.
FONE(FAX): (31) 3261-5786
E-MAIL: leonardos_vasconcellos@yahoo.com.br

IFCC WORLDLAB

Fortaleza - Brasil

20º Congresso Internacional de Bioquímica e Medicina Laboratorial

35º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas

8º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

28 de setembro - 2 outubro/2008

Local:

Centro de Convenções do Ceará

Análise comparativa de metodologias para dosagem de proteinúria de 24 horas*

Comparative analyses of methodologies for 24-hour proteinuria quantification

Juliana Bernardon Pretto Gonçalves, Maria do Carmo Miranda, Daniela Valcarenghi, Ednéia Casagrande Bueno

RESUMO - A dosagem de proteinúria de 24 horas é frequentemente utilizada para avaliar a função renal, principalmente em pacientes com insuficiência renal aguda e crônica, diabéticos e hipertensos. Este trabalho objetivou comparar duas metodologias empregadas na dosagem de proteinúria de 24 horas em laboratórios clínicos, uma colorimétrica automatizada (Sensiprot®, Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brasil) e outra turbidimétrica manual (ácido sulfossalicílico – princípio de Folin e Davis). Foram estudadas 50 amostras de urina de 24 horas de pacientes de idades diversas, de ambos os sexos, provenientes do Laboratório Escola de Análises Clínicas da Universidade do Vale do Itajaí. A comparação dos resultados obtidos nas duas metodologias pelo coeficiente de determinação mostrou não haver diferença na concentração de proteinúria de 24 horas nas amostras analisadas ($r^2=0,9585$). Desta forma, ambas as metodologias podem ser utilizadas na dosagem de proteinúria de 24 horas, embora a metodologia automatizada apresente como vantagens maior rapidez de execução, utilização de menor volume de amostra e reagente e obtenção de resultados mais reprodutíveis.

PALAVRAS-CHAVE - Automação, manual, metodologias, proteinúria.

SUMMARY - The proteinuria 24-hour quantification is frequently used to evaluate the renal function, mainly in patients with chronic and acute renal failure, diabetes and hypertension. This work aimed to compare two methodologies for 24-hour proteinuria quantification used in clinical laboratories, one of them is a colorimetric assay by automatized procedure (Sensiprot®, Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brazil) and other is a turbidimetric assay (acid sulfosalicylic – Folin and Davis) by manual procedure. A total of 50 24-hour urine samples from patients of varied ages, from both male and female gender had been studied. All samples were obtained between April and May of 2005, from patients carried through the Laboratório Escola de Análises Clínicas of the Universidade do Vale do Itajaí. No difference in the concentration of 24-hour proteinuria was observed between the both methodologies studied, according the determination coefficient ($r^2=0.9585$). Therefore, the both manual and automatized methodologies can be used for quantification of 24-hour proteinuria, even so the automatized methodology are faster, uses a minor volume of sample and reagent and present more reproducible results.

KEYWORDS - Automation, manual, methodologies, proteinuria.

INTRODUÇÃO

A análise laboratorial da urina é inquestionavelmente um importante exame não invasivo disponível para estudo das diferentes patologias renais. Quando bem executado e propriamente interpretado, o exame de urina auxilia no diagnóstico, tratamento e monitoramento de patologias que podem evoluir para insuficiência renal. A presença de quantidades elevadas de proteína na urina pode ser um indicador de doença renal, algumas vezes precedendo quaisquer outros sintomas clínicos. Entretanto, existem determinadas condições fisiológicas e sinalizadoras, como exercícios e febre, que podem levar a aumento da excreção de proteína na urina (FICHBACH, 2002; MOTTA, 2003).

Considerando que a urina normal, formada e excretada pelo sistema renal e trato urinário saudável, não contém proteína ou contém apenas vestígios desta, a presença persistente de proteinúria é a indicação mais importante de estados patológicos e de doença renal. Se mais que um vestígio for encontrado persistentemente na urina em amostra isolada se faz necessária uma avaliação quantitativa de 24 horas da excreção de proteína (LIMA *et al.*, 2001).

A urina de uma pessoa saudável geralmente contém proteína excretada na concentração de 2,5 a 26 mg/24 horas, e geralmente não é detectável pelos métodos laboratoriais habituais. Quando a quantidade de proteína na urina aumenta entre 30 e 150 mg/24 horas, mesmo que ainda seja uma pequena quantidade, a perda protéica é denominada microalbuminúria. Uma excreção urinária de proteínas superior a 150 mg/24 horas caracteriza a proteinúria, que pode variar desde pequenas quantidades até perda maciça

de proteínas durante este período de 24 horas. Uma vez encontrada, a proteinúria deverá ser investigada por uma completa avaliação da função renal (HENRY, 1999).

A proteinúria pode ser assintomática ou sintomática. A prevalência relatada de proteinúria em amostras urinárias isoladas é de 2 a 11%, relacionada principalmente ao método de detecção utilizado e à faixa etária dos indivíduos avaliados. Já a prevalência da proteinúria detectada em mais de uma amostra urinária é menor, variando entre um e 5%. Embora a proteinúria possa indicar a presença de doença renal subjacente importante, ela também ocorre fisiologicamente na chamada proteinúria funcional transitória e ortostática, condições estas sem relevância clínica (MOTTA, 2003).

A pequena quantidade de proteína presente normalmente na urina consiste de albumina e globulinas do plasma. A albumina é filtrada mais prontamente que as globulinas, devido ao impedimento oferecido pelos glomérulos à passagem de proteína do sangue para o líquido filtrado glomerular. Por conseguinte, o termo albuminúria é utilizado com frequência como sinônimo de proteinúria (HENRY, 1999; PAGANA, PAGANA, 2001).

A proteinúria observada em indivíduos normais resulta de três mecanismos: filtração glomerular, secreção tubular e não reabsorção tubular. Contudo, o principal mecanismo que impede a perda de proteínas plasmáticas na urina é a barreira de filtração glomerular, uma estrutura formada pelo endotélio do capilar glomerular, a membrana basal e o epitélio visceral da cápsula de Bowman ou podócitos. A barreira de filtração exerce dois tipos de restrição à passagem das proteínas plasmáticas, uma dependente do tama-

Recebido em 25/04/2006

Aprovado em 13/12/2006

*Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR) - Curso de Farmácia, Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI)

nho molecular e outra dependente da carga da molécula protéica (WALLACH, 2000).

Desta forma, as moléculas de grande peso molecular como a albumina (69.000 kDa) são mais dificilmente filtradas do que as de menor tamanho, como as globulinas (25.000 kDa). A outra restrição à passagem das proteínas plasmáticas envolve a eletronegatividade da barreira de filtração e que dificulta a passagem de moléculas com a mesma característica. Assim, a barreira de filtração impõe pouca resistência às moléculas eletropositivas ou eletroneutras, tais com as globulinas. Mais recentemente tem sido observado que alterações da hemodinâmica glomerular também podem influenciar na perda urinária de proteínas (HENRY, 1999; FICHBACH, 2002).

A principal proteína observada na urina de pacientes com doença glomerular é a albumina. A presença de albuminúria geralmente está relacionada a uma lesão na barreira de filtração, através de alterações estruturais, da perda da eletronegatividade, ou ainda da elevação da pressão de ultrafiltração transcápsular. Em determinadas condições clínicas, a determinação do índice de seletividade da proteinúria através da razão entre o clearance de IgG e o *clearance* de transferrina apresenta grande importância clínica (McELDERRY, TARBIT, CASSELS-SMITH, 1982; HENRY, 1999). O procedimento inicial diante de uma suspeita de é a identificação da mesma, ou seja, determinar se ela é persistente ou funcional. Uma proteinúria é dita persistente quando é detectada em pelo menos duas amostras urinárias num período de 30 dias e freqüentemente está associada à patologia renal subjacente. As proteinúrias funcionais podem ser transitórias ou ortostáticas, detectadas em amostras urinárias ocasionais ou quando o indivíduo está na posição ortostática e apresentando significado clínico duvidoso (ALVES, 1998; LIMA *et al.*, 2005).

Os tipos de proteinúria podem ser facilmente determinados através da eletroforese ou imunoeletroforese das proteinúrias urinárias. Embora este método seja indicado em determinadas situações clínicas, ele tem custo elevado e não está disponível rotineiramente em muitos laboratórios de análises clínicas (McELDERRY, TARBIT, CASSELS-SMITH, 1982).

O desenvolvimento de metodologias e estudos comparativos de metodologias espectrofotométricas para a determinação de proteínas sempre foram de grande interesse para profissionais das análises clínicas. A comparação de dois métodos para a análise de proteína na urina revela dados como sensibilidade, especificidade e custo-benefício, que proporcionam uma otimização no resultado obtido. Comparando duas metodologias de dosagem de proteínas na urina, pode-se averiguar vários fatores que permitem concluir vantagens e desvantagens de cada método (McELDERRY, TARBIT, CASSELS-SMITH, 1982; ZAIA, ZAIA, LICHTIG, 1998; LIMA *et al.*, 2005).

Alternativamente o tipo de proteinúria pode ser identificado de forma mais simples e barata, por meio de metodologia colorimétrica e turbimétrica. No procedimento colorimétrico, a proteína presente na amostra altera a cor do corante vermelho de pirogalol/molibdato de sódio, permitindo a quantificação da intensidade de cor e que é proporcional à concentração de proteína. O método turbimétrico emprega o ácido sulfossalicílico, que através da precipitação das proteínas pode-se determinar qualquer tipo de proteína na urina (HENRY, 1999; LIMA *et al.*, 2001).

Algumas dessas metodologias são realizadas através de métodos manuais, como a técnica de Folin e Davis, enquanto que outras podem ser realizadas em equipamentos de automação. As diferenças entre as duas variações de metodologias podem fornecer resultados discrepantes na

dosagem da proteína, devido tanto ao procedimento manual e automatizado, quanto pela reação envolvida na detecção da proteína (HENRY, 1999). Assim, o objetivo do presente trabalho foi comparar os dois métodos utilizados atualmente na determinação de proteínas na urina de 24 horas, empregando amostras biológicas de pacientes atendidos pelo Laboratório Escola de Análises Clínicas (LEAC) da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI).

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo obteve parecer favorável da Comissão de Ética em Pesquisa da UNIVALI (parecer nº 405/2005), de acordo com a Resolução no 196/96 do Conselho Nacional de Saúde sobre o assunto (BRASIL, 1996). No período de abril e maio de 2005 foram estudadas 50 amostras de urina de 24 horas de pacientes com idades variadas, de ambos os sexos, provenientes do Laboratório Escola de Análises Clínicas. As amostras de urina foram coletadas em frascos apropriados para o teste, e os pacientes devidamente orientados quanto ao procedimento de coleta. Inicialmente foi determinado o volume total de cada amostra de urina, seguindo da análise pareada de cada amostra por duas metodologias distintas, para quantificação da proteína presente.

A metodologia turbimétrica manual para quantificação da proteinúria, de acordo com o princípio de Folin e Davis, foi realizada após a preparação dos reagentes e confecção da curva de calibração com ácido sulfossalicílico e cloreto de sódio (LIMA *et al.*, 1999). A curva de calibração se fez necessária para a quantificação precisa da proteína presente na amostra. As amostras foram processadas após a centrifugação, com a adição de ácido sulfossalicílico e homogeneização por inversão. A turbidez da amostra foi determinada em espectrofotômetro Shimadzu UV 1601 (Shimadzu Corporation, Japan), a 540 nm, sendo proporcional à concentração de proteína presente na amostra.

A metodologia colorimétrica automatizada foi realizada com o emprego do kit Sensiprot (Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brasil), disponível comercialmente. O teste se baseia na formação de um complexo pela reação entre o vermelho de pirogalol e o molibdato de sódio que, quando combinado com a proteína presente na amostra, em meio ácido, desenvolve um cromóforo de cor azul. A cor formada foi quantificada a 600 nm, sendo proporcional à concentração de proteína presente na amostra. Todo o procedimento foi realizado no equipamento de automação em bioquímica Cobas Mira (Roche®, Belleville, NJ, USA).

Os resultados obtidos nos métodos turbimétrico manual e colorimétrico automatizado foram avaliados para a determinação do desempenho das duas metodologias. A comparação das metodologias foi realizada pelo coeficiente de determinação (r^2).

RESULTADOS

Os resultados individuais, em mg/24 horas, obtidos na análise pareada das 50 amostras de urina de 24 horas pelos métodos turbimétrico manual e colorimétrico automatizado podem ser observados na Figura 1. A média e desvio padrão foram $1053,9 \pm 1509,8$ mg/24 horas para a metodologia colorimétrica automatizada e $720,1 \pm 1047,6$ mg/24 horas para o método turbimétrico manual. O intervalo de confiança de 95% foi de $1054,0 \pm 429,5$ mg/24 horas para a metodologia colorimétrica automatizada e de $720,2 \pm 298,0$ mg/24 horas para o método turbimétrico manual. A Figura 2 apresenta a comparação das duas metodologias de acordo com o coeficiente de determinação (r^2).

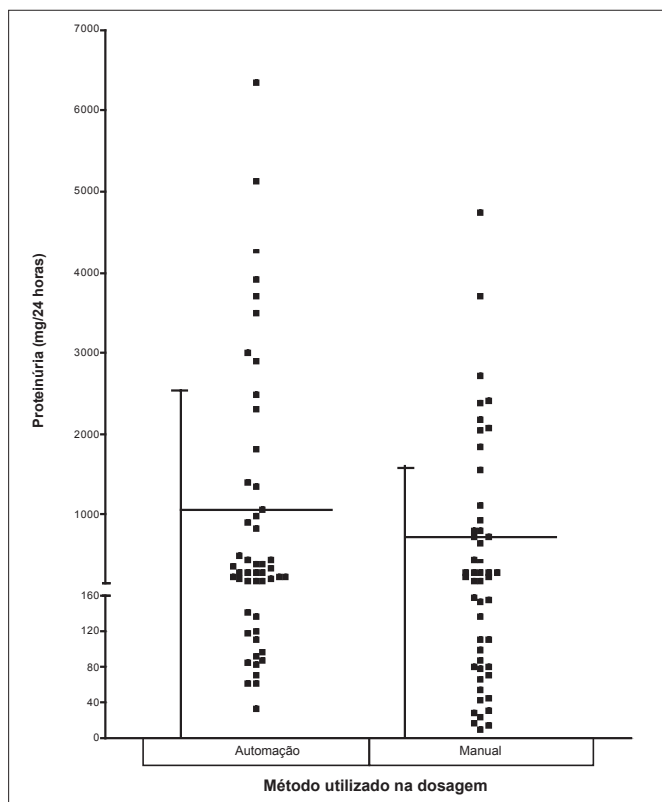


Figura 1. Resultados individuais, em mg/24 horas, obtidos na análise pareada das 50 amostras de urina de 24 horas pelos métodos turbidimétrico manual (ácido sulfossalicílico-Folin e Davis) e colorimétrico automatizado (Sensiprot®). Barra horizontal corresponde à média do grupo. Barra vertical corresponde ao desvio padrão do grupo.

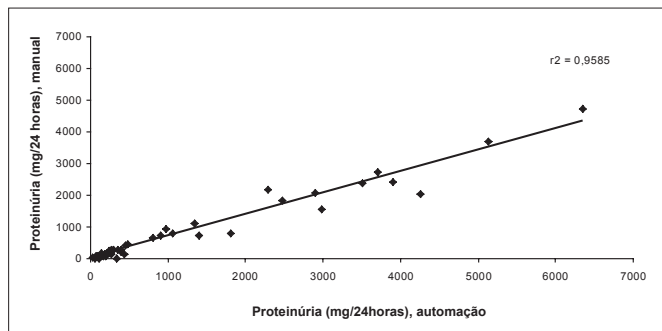


Figura 2. Comparação dos resultados, em mg/24 horas, obtidos na análise pareada das 50 amostras de urina de 24 horas pelos métodos turbidimétrico manual (ácido sulfossalicílico-Folin e Davis) e colorimétrico automatizado (Sensiprot®). r^2 : coeficiente de determinação.

DISCUSSÃO

O estudo comparativo de duas metodologias distintas, mas que tem a mesma finalidade no laboratório de análises clínicas, revela as vantagens e desvantagens de cada método, além de dados como sensibilidade, especificidade e custo-benefício, proporcionando a otimização no resultado obtido (LIMA *et al.*, 2005).

Vários métodos tem sido desenvolvidos para determinar a proteína urinária. Muitos desses métodos espectrofotométricos, ao longo dos anos, têm sido propostos para a determinação de proteínas, mas não existe uma metodologia considerada de uso universal para todos os meios. Somado a isso, a grande maioria dos ensaios, incluindo aqueles de

objetivam a quantificação da proteinúria, não é completamente satisfatória devido à estreita faixa de linearidade da curva de calibração e a pouca repetitividade dos mesmos (McELDERRY *et al.*, 1982; ZAIA, ZAIA, LICHTIG, 1998). Em geral, os resultados obtidos por métodos de precipitação demonstram uma variação na concentração de até duas vezes. No método turbidimétrico com ácido sulfossalicílico a precisão é menor e os coeficientes de variação não são adequados. Somado a estes fatores, a impossibilidade de obtenção de um padrão primário representando a mistura variada de proteínas que são excretadas na urina também corroboram com as deficiências do método (HENRY, 1999). Um importante critério de performance primária nos ensaios utilizados para determinar parâmetros bioquímicos é a sensibilidade (HENRY, 1999). Os resultados obtidos na quantificação da proteinúria de 24 horas em amostras pareadas pelo método turbidimétrico manual e colorimétrico automatizado mostraram ambos são sensíveis à presença de proteínas. A comparação dos resultados pareados mostrou que não há diferença entre as duas metodologias empregadas ($r^2=0,9585$, Figura 2). Entretanto, os resultados obtidos foram ligeiramente superiores no método colorimétrico automatizado (Figura 1). O elevado desvio padrão observado nas dosagens em ambos os métodos é justificado pela população utilizada para o estudo, que apresentou proteinúria tanto normal quanto alterada.

Outros critérios considerados na rotina laboratorial incluem o custo e o tempo de execução (LIMA, 2001). O método turbidimétrico manual tem custo médio de R\$ 0,10 (dez centavos de real) para cada amostra dosada, enquanto que o método colorimétrico automatizado custa aproximadamente R\$ 0,25 (vinte e cinco centavos de real) por teste. Entretanto, no método turbidimétrico manual uma nova curva de calibração deve ser realizada a cada preparação da solução de ácido sulfossalicílico, além da necessidade de um volume maior de amostra para a execução do método. A metodologia colorimétrica automatizada é indiscutivelmente mais rápida, economiza tempo do responsável pelo teste, utiliza menor volume de amostra e reagente e apresenta resultados mais reprodutíveis.

REFERÊNCIAS

- ALVES, M. A. R. Diagnóstico de doença renal crônica: avaliação de proteinúria e sedimento urinário. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., Rio de Janeiro, v. 31, p. 6-9, 1998.
- BRASIL. Leis, decretos, etc. Resolução n.196, de 10 de out. de 1996. Diário Oficial da União, Brasília, n.201, 16 de out. 1996. Seção 1, p.21082-21085. [Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos].
- FICHBACH, F. Exames Laboratoriais e Diagnósticos. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002, p. 504.
- HENRY, J. B. Diagnósticos clínicos e tratamentos por métodos laboratoriais. 19 ed. São Paulo: Manole, 1999, p. 1522.
- LIMA, J. C. C.; MOREIRA, A.; LIMA, D.; CORREIA, L. C. L. Validação da medida de proteína C-reativa de alta sensibilidade (PCR-as) por quimioluminescência para estimativa de risco cardiovascular em indivíduos ambulatoriais: análise comparativa por nefelometria. J. Bras. Pat. Med. Lab., Rio de Janeiro, v. 41, p. 15-19, 2005.
- LIMA, O. Métodos de Laboratório Aplicados a Clínica. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, p. 600.
- McELDERRY, L. A.; TARBIT, I. F.; CASSELS-SMITH, A. J. Six methods for urinary protein compared. Clin. Chem., Baltimore, v. 28, p. 356-360, 1982.
- MOTTA, V. T. Bioquímica clínica para o Laboratório: Princípios e interpretações. 4 ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau, 2003, p. 411.
- OLIVEIRA, F. Bioética: uma face da cidadania. São Paulo: Moderna, 1997, p. 144.
- PAGANA, K. D.; PAGANA, T. J. Manual de testes diagnósticos laboratoriais. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001, p. 541.
- ZAIA, D.A.M.; ZAIA, C.T.B.V.; LICHTIG, J. Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes. Química Nova, v. 21(6), p. 787-793, 1998.
- WALLACH, J. Interpretation of Diagnostics Tests. 7 ed. Boston: Lippincott Williams & Wilkins, 2000, p. 505.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:
Curso de Farmácia, Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI)
Rua Uruguai, 458, bloco 17, Itajaí
CEP 88.302-202 - SC, Brasil
Fone 55-47-341-7540, Fax 55-47-341-7501.

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

Citometria de imagem do conteúdo de DNA nuclear de células epiteliais do colo uterino

DNA content image cytometry of epithelial cells cervix

Sabrina Gonçalves¹, Patrícia Haas¹, Celso Spada¹, Clarisse Salete Fontana², Luciano Range¹,
Maria Andréia Corrêa Mendonça³ & Carlos Roberto de Carvalho³

RESUMO - Na luta contra a malignidade cervical, vários métodos adjuvantes têm sido propostos para aumentar a acurácia de diagnósticos citológicos. A aneuploidia cromossomal tem sido aceita como um evento chave precoce na tumorigênese, e é detectado pela citometria de imagem, podendo servir como um marcador de neoplasia. Um consenso internacional sobre a aplicação clínica da citometria tem sido alcançado. Entretanto, no Brasil, esta técnica ainda não é utilizada para complementar o *screening* citológico. O objetivo deste trabalho foi padronizar a metodologia de citometria de imagem para avaliar o conteúdo de DNA nuclear de células escamosas do colo uterino. Os resultados demonstraram que os procedimentos envolvendo o preparo da lâmina, fixação e coloração do DNA pela reação de Feulgen foram apropriados para obtenção dos valores de densidade óptica integrada, que foram reescalados em termos de valor-C relativo à ploidia do DNA. Além disso, a análise do DNA de lesões cervicais revelou resultados diplóides e poliplóides, confirmando a utilidade da citometria de imagem como um método adjuvante adequado para diagnóstico e prognóstico inovador no Brasil, de lesões intra-epiteliais cervicais e carcinoma cervical. Isto nos permite inferir que a implementação deste sistema de análise de imagem pode facilitar o seu uso na rotina laboratorial em diversos centros de prevenção e controle de câncer de colo uterino.

PALAVRAS-CHAVE - citometria de imagem, conteúdo de DNA, citopatologia cervical, lesão intra-epitelial escamosa, papiloma vírus humano.

SUMMARY - In the fight against the cervical malignancy, several adjuvant diagnostic methods have been proposed to increase the accuracy of cytologic diagnoses. Because chromosomal aneuploidy has been accepted as an early key event in tumorigenesis, and is detected by image cytometry, being able to serve as a neoplasia marker. International consensus on the clinical application of image cytometry has been reached. However, in Brazil this technique is still not used to complement cytological screening. The objective of this work was to standardize the methodology of image cytometry to evaluate nuclear DNA content of squamous cells of the cervix. The results had demonstrated that to the procedures involving the preparation of the smear, fixation and DNA staining for the Feulgen reaction had been appropriate for attainment of the values of integrated optical density, that had been scaling in terms of relative c value for ploidy of the DNA. Moreover, the DNA analysis of cervical lesions disclosed resulted diploid and poliploid, confirming the utility of the image cytometry as an adjuvant method suitable for the diagnosis and prognosis of cervical intraepithelial lesions and cervical carcinoma. This in allows to conclude that the implementation of this image analysis system can facilitate to its use in laboratorial routine in diverse prevention centers and control cervical cancer.

KEYWORDS - image cytometry, DNA content, cervical cytopathology, squamous intraepithelial lesion, human papillomavirus

INTRODUÇÃO

O conteúdo de DNA nuclear tem sido estudado em vários tipos de tumores através da citometria de fluxo e da análise de imagem. Estas técnicas são baseadas na determinação da ploidia do DNA e são empregadas com o objetivo de criar parâmetros com a caracterização da malignidade, que possam fornecer informações mais precisas sobre o comportamento biológico dos tumores em adição ao método histológico tradicional e a distribuição do ciclo celular nos tumores, correlacionando-os com as características clínico-patológicas (BRESCHIA *et al.*, 1990; KIMBALL *et al.*, 1996; LAGE *et al.*, 1992).

A citometria de imagem é uma das novas tecnologias que vem sendo utilizada com sucesso em Países desenvolvidos, como complemento para análises laboratoriais de rotina. Além disso, a citometria de imagem também pode ser usada como um método de controle da qualidade em diagnósticos histológicos e citológicos. Em pacientes com diagnóstico citológico positivo para células tumorais e acompanhamento histológico negativo, a detecção de aneuploidia do DNA deveria motivar o patologista a trabalhar mais completamente um dado espécime de conização ou biópsia (BOCKING & NGUYEN, 2004). A citometria de imagem

pode ser aplicada a pequeno número de células, permite medidas seletivas de células classificadas morfológicamente em populações mistas, identifica e seleciona medidas de possíveis eventos raros e é um controle da qualidade de imagens dos núcleos armazenados ou para novas medidas após realocização. Associa também padrões histológicos de classificação de tumores aos padrões de quantificação do DNA e pode ser utilizada em esfregaços previamente corados que são descorados para utilização da reação de Feulgen (BOCKING *et al.*, 1994; BOCKING, 1995; CAREY, 1994). A imagem capturada na citometria de imagem é convertida em pixels, que estão relacionados a uma cor e uma intensidade específicas, e processada automaticamente pelo programa de análise de imagens, gerando valores de absorbância relacionados com a área, denominados valores de densidade óptica integrada (DOI) (HARDIE *et al.*, 2002). A distribuição dos valores relativos do conteúdo de DNA obtidos pela DOI são reescalados em unidades de valor-C, para facilitar a plotagem de um padrão de histograma característico, no qual são analisados os picos G0/G1 e G2/M, conforme algoritmos de interpretação diagnóstica propostos por Haroske e Bocking em 2001 e 2004, respectivamente (HAROSKE *et al.*, 2001; BOCKING & NGUYEN, 2004).

Recebido em 29/06/2006

Aprovado em 02/10/2006

Trabalho Vencedor do Prêmio CFF de 2006

¹Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC ;

²Hospital Universitário – Florianópolis, SC;

³Universidade Federal de Viçosa - MG

Métodos diagnósticos adjuvantes correntemente propostos para aumentar a acurácia diagnóstica da citologia e histologia cervical são ensaios para a detecção e tipagem do HPV e citometria de imagem (BOCKING, 1995; BOCKING & MOTHERBY, 1999; BOCKING & NGUYEN, 2004). Em uma série de 50 pacientes com displasia cervical leve, moderada e severa, Kashyap e colaboradores descobriram que 44% dos pacientes mostraram um padrão aneuplóide de DNA, ao passo que a positividade para HPV de alto risco oncogênico foi encontrado em 46% dos pacientes. O acompanhamento dos dados revelou que 72,7% dos pacientes que tiveram um padrão aneuplóide de DNA e foram positivos para o HPV de alto risco progrediram para carcinoma *in situ*, comparado com somente 4,4% dos pacientes que foram positivos para o HPV de alto risco e tiveram um padrão euplóide de DNA (KUHN *et al.*; 2000).

Em casos de equívocos no diagnóstico citológico, a detecção citométrica de aneuploidia do DNA revela a presença futura de células malignas, especialmente quando há discrepâncias entre diagnóstico citológico e histológico. Em uma série de 170 amostras cervicais de rotina, aparentemente falso-positivas, a aneuploidia do DNA foi encontrada em 47 amostras sem explicação histológica. Usando aneuploidia do DNA como um sensível marcador de malignidade no epitélio uterino, os autores classificaram àqueles casos como histologicamente falso-negativos, e não como diagnóstico citológico falso-positivo (BOCKING & NGUYEN, 2004).

Nas neoplasias intra-epiteliais cervicais, as lesões aneuplóides provavelmente persistem ou progridem até a malignidade, enquanto lesões diplóides ou poliplóides regredem. Na cérvix uterina a presença de aneuploidia em SIL está estritamente correlacionada ao seu grau, estando presente em 75% a 100% das pacientes com lesões de alto grau (WALSH *et al.*, 1995; ONOFRE *et al.*, 2003). Se a aneuploidia do epitélio escamoso ectocervical pode prever o desenvolvimento de uma anormalidade histomorfológica em lesões de alto grau, esta característica pode ser útil em identificar indivíduos que requerem maior atenção ou tratamento adicional. Além disso, se a aneuploidia fosse identificada adjacente à lesões de alto grau, este estado aneuplóide poderia ser potencialmente valioso na avaliação global de esfregaços cervicais de pacientes com difícil diagnóstico citológico (McDERMOTT, 1997). A aneuploidia é largamente aceita como marcador de malignidade em lesões *borderline* da cérvix uterina. Muitos autores consideram aneuploidia somente se uma lesão revela um padrão de distribuição de DNA diferente de 2c, 4c ou poliplóide (c = quantidade de DNA em uma célula haplóide). Entretanto, outros consideram uma lesão aneuplóide somente se células individuais apresentarem um conteúdo de DNA > 5c. Este conceito está baseado na observação que células com um conteúdo de DNA > 5c não ocorrem em lesões benignas que não foram infectadas por vírus (CHATELAIN *et al.*; 1989).

Várias evidências biológicas e dados clínicos confirmam a utilidade da citometria de imagem como um método adjuvante, adequado para o diagnóstico e prognóstico de lesões intra-epiteliais cervicais e carcinoma cervical invasivo. Anteriormente, uma ferramenta de pesquisa, a citometria de imagem do DNA padronizada, tem se tornado um método laboratorial proveitoso e de baixo custo para estabelecer, objetivamente e com reprodutibilidade, um diagnóstico precoce de lesões intra-epiteliais cervicais suspeitas de progressão, com alto nível de qualidade. Além disso, pode contribuir para a avaliação de relevantes parâme-

tros prognósticos e para o monitoramento do tratamento de pacientes com carcinoma cervical invasivo (BOCKING & NGUYEN, 2004). Para a determinação do carcinoma cervical, o uso das técnicas atuais, como o teste de Papanicolaou, apresenta baixos índices de reprodutibilidade. Os testes moleculares, quando apresentam resultados positivos para tipos virais altamente oncogênicos, não determinam necessariamente o desenvolvimento de uma displasia, sendo necessários vários outros fatores concomitantes. Portanto, novas técnicas de análises preditivas, confiáveis e reprodutíveis devem ser admitidas.

No Brasil, este método ainda não tem sido utilizado como complemento para análises laboratoriais de rotina. Logo, o objetivo principal do presente trabalho é padronizar a metodologia de citometria de imagem, para avaliar o conteúdo da ploidia de DNA nuclear de células escamosas do colo uterino e, consequentemente, disponibilizar esta técnica para outros laboratórios que possam ter interesse na sua implementação.

MATERIAL E MÉTODOS

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Este estudo foi prospectivo em humanos com procedimentos experimentais *in vitro*, com amostras de raspado celular de colo uterino. Foram realizadas coletas de material cervical uterino de pacientes atendidas no Serviço de Tocoginecologia do Hospital Universitário. Optou-se por realizar o estudo neste Serviço em decorrência da rotina assistencial que mantém atendimento em ginecologia e recebe pacientes que foram encaminhadas de outros serviços públicos e particulares. As pacientes foram primeiramente esclarecidas quanto ao objetivo da pesquisa, forma de condução (sigilo e privacidade), os métodos aplicados e os benefícios que o projeto poderia trazer. Após os esclarecimentos, as pacientes foram convidadas a participar da pesquisa e, havendo interesse, foram obtidos seus consentimentos por escrito.

Durante o atendimento médico, foi catalogado o resultado do exame citopatológico e coletada amostra de material cervical, utilizando-se o *kit*, que é composto de um *swab* e um tubo plástico que contém um líquido universal citológico, o qual foi desenvolvido para preservação de células, DNA, RNA e proteínas. Em seguida, os tubetes foram resfriados entre 2° e 8° C, para garantir a viabilidade das células, e encaminhados ao Laboratório de Citogenética e Citometria da Universidade Federal de Viçosa - MG, onde houve a preparação dos espécimes citológicos, utilizando-se, como base, o consenso ESACP (*European Society for Analytical Cellular Pathology*) 2001 e as diretrizes de citometria de imagem do DNA em citologia cervical de 2004.

GRUPO CONTROLE

Pacientes escolhidas ao acaso, durante consulta ao ginecologista, para a coleta do epitélio da mucosa bucal.

GRUPO DE INCLUSÃO

- Pacientes submetidas a exames de rotina, com resultado citológico Negativo para lesão intra-epitelial e malignidade (NILM);
- Pacientes com alterações como células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US);
- Pacientes com diagnóstico citológico de lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LSIL);
- Pacientes com diagnóstico citológico de lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL).

GRUPO DE EXCLUSÃO

- Pacientes gestantes e em tratamento ginecológico (quimioterapia, radioterapia, cauterização, cirurgia e tratamento local com ácido tricloroacético (TCA), e outros medicamentos);
- Pacientes com diagnóstico citológico ou histológico de carcinoma invasor.

ESTUDO CEGO

Para testar a hipótese proposta neste estudo foi realizado um estudo cego, onde o pesquisador, que processou as análises por Citometria de Imagem, não tinha conhecimento do resultado da colpocitologia oncótica.

AValiação CITOPATOLÓGICA

Foi realizada anteriormente à consulta ao médico a fim de que o mesmo pudesse analisar o resultado do exame e, então, coletar a amostra para este estudo. Nesta pesquisa foi adotada a classificação Bethesda de 2001 por ser uma terminologia que comunica informações clinicamente relevantes a partir do laboratório para o médico responsável pelo atendimento das pacientes, por ser uma terminologia uniforme e razoavelmente reprodutível entre diferentes patologistas e laboratórios e também por refletir a compreensão mais atual da neoplasia cervical (SOLOMON & NAYAR, 2005).

Basicamente os critérios adotados pelo citopatologista na classificação, segundo SOLOMON & NAYAR, 2005, foram:

- NILM: Ausência de evidência celular e nuclear de neoplasia;
- ASC-US: Núcleos com aproximadamente $2^{1/2}$ a 3 vezes o tamanho da área do núcleo de uma célula escamosa normal intermediária (aproximadamente $35 \mu\text{m}^2$). A proporção núcleo e citoplasma é ligeiramente aumentada (N/C). A hipercromasia nuclear é mínima e há irregularidade na distribuição da cromatina ou da forma nuclear;
- LSIL: O aumento nuclear é, pelo menos, três vezes a área do núcleo de uma célula intermediária normal, resultando em aumento da relação núcleo/citoplasma. Graus variáveis de hipercromasia nuclear são acompanhados por variações no tamanho nuclear, número e formato. A binucleação ou multinucleação estão geralmente presentes. A cromatina apresenta, em geral, uma distribuição regular, apesar de ser grosseiramente granular; por outro lado, a cromatina pode parecer borrada ou degenerada. O contorno das membranas nucleares é frequentemente e ligeiramente irregular, mas pode ser liso;
- HSIL: A hipercromasia nuclear é acompanhada por variações no tamanho nuclear e na sua forma. O grau de aumento nuclear é mais variável do que o visto na LSIL. Algumas células com HSIL apresentam o mesmo grau de aumento nuclear como na LSIL, mas a área do citoplasma está diminuída, levando ao aumento acentuado da proporção núcleo/citoplasma. Outras células apresentam uma proporção núcleo/citoplasma muito elevada, mas o tamanho real dos núcleos pode ser consideravelmente menor do que na LSIL. A cromatina pode ser fina ou grosseiramente granular e com distribuição regular. O contorno da membrana nuclear é bastante irregular e frequentemente demonstra entalhes proeminentes ou sulcos.

ANÁLISE DAS AMOSTRAS

1 Preparação dos espécimes citológicos:

a. Fixação Celular: as amostras contidas nos kits de coleta foram primeiramente agitadas em vórtex, durante aproximadamente 30 segundos. Em seguida, todo o conteúdo de

cada tubo do kit (aproximadamente 1 ml) foi transferido para Eppendorfs, e o volume foi completado (q.s.p. 2ml) com solução fixadora de etanol 70%. O material foi centrifugado a 1.100 rpm, durante 5 minutos e o sobrenadante descartado. Repetiu-se esta etapa fixadora por 3 vezes com intervalos de 10 minutos. Posteriormente, as amostras foram armazenadas na mesma solução fixadora, em freezer à -20°C .

b. Preparação da Lâmina: a suspensão de células armazenada em freezer foi centrifugada a 1.100 rpm, durante 5 minutos e o sobrenadante descartado. Ao centrifugado completou-se para o volume final de 0,5 ml de etanol 70%. Após uma etapa de vórtex, por 40 segundos, retirou-se 50 μl da suspensão, que foi gotejada em lâmina rigorosamente limpa. A lâmina foi seca ao ar, com agitação, e em chapa aquecedora (60°C), por no mínimo 1 hora. Cada lâmina foi preparada com gotejamentos de uma suspensão de células-padrão normal, proveniente do epitélio bucal, gotejada do lado A (esquerdo) e de uma suspensão celular obtida do epitélio cervical uterino, gotejada no lado B (direito). Para cada amostra foram confeccionadas 3 lâminas em dias diferentes e com soluções e corantes recém-preparados.

c. Pós-fixação: As lâminas foram colocadas em solução pós-fixadora de formaldeído 4% durante 60 minutos. Em seguida, foram lavadas em água corrente por 10 minutos e submetidas à hidrólise em HCl 5 M, a 20°C , durante 60 minutos. Após a hidrólise, as lâminas foram lavadas novamente, durante 3 minutos, em água destilada, com 3 repetições.

d. Coloração: As lâminas foram colocadas em câmara úmida, no escuro, e com Reativo de Schiff durante 12 horas. Após a coloração, as lâminas foram submetidas a três lavagens em água sulfurosa durante 2 minutos para remoção do excesso de Reativo de Schiff. Em seguida, as lâminas foram submetidas à três lavagens em água destilada durante 1 minuto. As lâminas foram secas ao ar, montadas com lamínula e óleo de imersão, e armazenadas no escuro até o momento da captura das imagens (MENDONÇA, 2006).

CITOMETRIA DE IMAGEM

1. Sistema de análise de imagem: O sistema de análise de imagem utilizado no presente estudo consistiu de um fotomicroscópio Olympus™, modelo BX60 com fonte de luz estabilizada, acoplado com uma câmera digital Photometrics®, monocromática CCD de 12 bits, do kit de análise de imagem Cool SNAP-pro™. Utilizou-se um filtro de interferência de cor verde (IF 550) e filtros de densidade neutra (Olympus™). Cada imagem foi capturada com uma objetiva UPlanFI de 40x, com 0,75 de abertura numérica. Após a calibração do sistema óptico, pelo método de Köhler, as imagens dos núcleos foram capturadas e processadas com auxílio das ferramentas do programa Image Pro® Plus 4.5, do kit de análise de imagem Cool SNAP-pro™. Uma curva de calibração foi obtida a partir de filtros de densidades conhecidas ($\text{DO} = 0,15; 0,30; 0,40; 0,60; 0,90; 2,50$), e certificados pela Edmund Industrial Optics.

2. Calibração do sistema óptico e digital: a avaliação do sistema de análise de imagem foi realizada conforme descrito por PUECH & GIROUD, 1999, HARDIE *et al.*, 2002, VILHAR & DERMASTIA, 2002, MENDONÇA, 2006 e consistiu da realização de testes de estabilidade, linearidade e uniformidade da densidade óptica integrada (DOI) do núcleo, para atender as normas do ESACP 2001. O teste de estabilidade consiste na determinação do tempo que o sistema de análise de imagens necessita, a partir do instante em

que foi ligado, para tornar-se estável. Para a realização do teste de estabilidade, foram calculados os valores de DOI de um pixel e de um núcleo de eritrócito de fêmea de *Galus domesticus* posicionados no centro da imagem de captura. As imagens foram capturadas em intervalos de 4 minutos, durante 88 minutos. O teste de linearidade é um procedimento de verificação da correlação entre a DOI real dos objetos e a gerada pelo sistema de análise de imagens. Tal correlação deve ser linear. A avaliação da linearidade do sistema foi realizada seguindo a metodologia descrita por HARDIE *et al.*, 2002. Utilizou-se de filtros de densidade calibrada (Stepped Density Filter - Edmund Industrial Optics). Realizou-se um teste de uniformidade para verificar se cada região do campo de visão e de captura da imagem recebe a mesma intensidade luminosa. Este teste avaliou a DOI de um mesmo núcleo posicionado em diferentes coordenadas do campo de captura da imagem. Adotou-se para este procedimento a metodologia descrita por VILHAR & DERMASTIA, 2002, MENDONÇA, 2006.

3. Captura das Imagens: Utilizou-se uma função Macro de programação para automatizar a captura de núcleos individualizados e posteriormente foram agrupados em uma biblioteca de imagens. A seleção dos núcleos a terem as imagens capturadas seguiu um procedimento semi-interativo, o qual descartou núcleos cuja morfologia não se apresentava íntegra ou que não pertencia ao epitélio escamoso.

4. Cálculo da Densidade Óptica Integrada (DOI): O processamento da imagem e o cálculo da DOI foram realizados automaticamente pelas ferramentas do sistema de análise de imagem (Image Pro® Plus 4.5).

5. Análise de dados: Para as análises estatísticas dos dados obtidos da citometria de imagem das células epiteliais de colo uterino foi utilizado o *software* SPSS 11.4 versão Macintosh™. O valor de leitura da DOI de cada núcleo foi reescalado em termos de valor-C relativo à ploidia do DNA, para a elaboração dos histogramas.

6. Análise do histograma de DNA: Seguiram-se basicamente as diretrizes e os algoritmos do ESACP 2001 para a interpretação dos histogramas de DNA dentro da análise de citometria de imagem, conforme tabela 1 (HAROSKE *et al.*, 2001; BOCKING & NGUYEN, 2004).

Segundo o consenso ESACP 2001, o Coeficiente de Variação (CV) da razão entre a MODA da DOI das células de referência e das células não-patológicas G0/G1 em uma série de medidas deve ser < 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O controle da qualidade da instrumentação usada no sistema de análise de imagem é o primeiro passo para a padronização da análise de imagem do DNA (PUECH & GIROUD, 1999). A maior parte dos trabalhos internacionais envolvendo citometria de imagem não apresenta nenhuma menção a controle da qualidade do sistema óptico e digital antes da execução das análises, no entanto, o presente estudo apresentou um controle de qualidade prévio realizado por MENDONÇA, 2006. Este controle da qualidade da instrumentação, dentro das nossas condições laboratoriais, juntamente com a preparação das amostras citológicas representa um grande avanço na padronização da citometria de imagem em nosso meio.

No corrente estudo foi utilizado preparado de base líquida, para coleta das amostras, por apresentar uma série de vantagens em relação ao método convencional (esfregaço em lâmina), entre elas: maior amostragem de células, redução do número de hemácias, exsudato inflamatório e muco

(PEREIRA *et al.*, 2003), que podem interferir na captura dos núcleos alterados na citometria de imagem.

LORENZATO *et al.*, 2001, em estudo utilizando citologia clássica, citometria de imagem e tipagem do HPV, observaram que o emprego do método convencional impedia a análise da mesma amostra nos três testes. Neste mesmo estudo, os autores concluíram que o problema da reprodutibilidade entre amostras de citologia, citometria de imagem e tipagem do HPV seria superado pelo uso da citologia em base líquida.

Segundo BOCKING & NGUYEN, 2004, tem sido encontrado que as propostas de diagnóstico e prognóstico pela citometria de imagem se apresentam inadequadas quando realizada diretamente em secção de tecido. As medidas do seccionado não indicam a real quantidade de DNA, logo o procedimento proposto é a preparação dos esfregaços em monocamada por separação enzimática celular (BOCKING, 1995).

A técnica de gotejamento empregada neste trabalho proporcionou lâminas com qualidade adequada para citometria de imagem, em que os núcleos apresentaram-se espalhados, com densidade de núcleos por campo constante, poucas sobreposições e no mesmo plano de foco. Esses fatores possibilitaram a distribuição homogênea do cromóforo no núcleo. Caso o cromóforo apresentasse distribuição não homogênea, a medida de absorbância obtida em determinado ponto poderia não estar correlacionada com o conteúdo de DNA nuclear (CHIECO & DERENZINI, 1999). A coloração estequiométrica do DNA pela reação de Feulgen, observada neste estudo, proporcionou a obtenção de núcleos de células epiteliais bem preservadas como observado na figura 1.

A hidrólise é o passo crítico, mais conhecido, da reação de Feulgen (CHIECO & DERENZINI, 1999; GREILHUBER, 2005). O tempo de hidrólise deve ser determinado para cada material, a fim de evitar que haja interferência na coloração do DNA pela reação de Feulgen (CHIECO & DERENZINI, 1999). Durante a hidrólise ocorre formação de radicais aldeídos nas desoxirriboses, por meio da depuração, essenciais por se associarem aos cromóforos presentes no reativo de Schiff (HARDIE *et al.*, 2002).

Neste estudo, a coloração considerada adequada foi obtida em lâminas de células epiteliais expostas ao reativo de Schiff por 12 horas e hidrolisadas por 60 minutos. Períodos inferiores e superiores de hidrólise resultaram lâminas em que os núcleos estavam fracamente corados ou não puderam ser visualizados.

A seleção dos núcleos, nesta pesquisa, a terem as imagens capturadas, seguiu um procedimento semi-interativo, o qual descartou núcleos cuja morfologia não se apresentava íntegra ou que não pertencia ao epitélio escamoso. Em avaliações realizadas por NGUYEN *et al.*, 2004, as imagens capturadas seguiram um procedimento interativo randomizado, no qual, somente núcleos alterados foram capturados. BOCKING, 1995, afirmou que a sensibilidade da citometria de imagem interativa para predizer malignidade em amostras displásicas é de 96,7%.

Entretanto, BOLLMANN *et al.*, 2001, utilizam um procedimento interativo não randomizado na captura das imagens. Este procedimento inclui núcleos que não pertencem ao epitélio escamoso.

A resolução da citometria de imagem é definida por sua precisão, que permite a diferenciação de dois picos separados e sua acurácia em reconhecer um pico em uma posição anormal usando o limiar de precisão mínima de medidas do consenso ESACP 2001. Segundo este consenso, o CV da

razão entre valor modal de DOI das células de referência e das células não-patológicas G0/G1 capacita o reconhecimento de stemline de DNA como aneuplóide se elas desviarem mais que 10% do domínio 2c ou domínio 4c, ou seja, $2c \pm 0,2c$ ou $4c \pm 0,4c$ (BOCKING & NGUYEN, 2004).

O CV da razão entre a MODA da DOI das células de referência e das células não-patológicas G0/G1, observado no presente estudo, foi igual a 4,1%, indicando a adequação das metodologias de calibração do sistema óptico e digital, coloração e análise adotadas. Além disso, o CV das medidas de DOI, apresentado neste trabalho, foi inferior a 5%, seguindo os padrões recomendados para esse tipo de estudo (BOCKING *et al.*, 1995; HAROSKE *et al.*, 1998; HAROSKE *et al.*, 2001).

As células de referência são necessárias para o escalonamento das medidas densitométricas de DNA. Linfócitos, granulócitos, células epiteliais normais ou células do estroma são usualmente empregados como padrão interno. E como padrão externo, muitas vezes é utilizado hepatócitos de rato (BOCKING, 1995).

O padrão externo caracteriza-se por ser processado e analisado separadamente da amostra teste. Já no padrão interno, a amostra teste e o padrão são processados e analisados em conjunto (MOTLEY *et al.*, 2000). No presente estudo foi utilizado células da mucosa oral como padrão interno, sendo preparadas e fixadas nas mesmas condições das células em estudo.

BOLLMANN *et al.*, 2001, utilizaram leucócitos e linfócitos como células de referência. NGUYEN *et al.*, 2004, utilizaram células escamosas normais de colo uterino. MÜLTHAUP *et al.*, 1993, utilizaram linfócitos e células escamosas normais da cérvice uterina. SHIRATA *et al.*, 2001 e LORENZATO *et al.*, 2001, utilizaram hepatócitos de rato.

As desvantagens de se utilizar o padrão externo podem ser atribuídas a flutuações na calibragem do equipamento entre as análises (MOTLEY *et al.*, 2000). Esse tipo de problema tem sido evitado com o uso do padrão interno. Quando o processamento desse e da amostra é realizado em conjunto, ambos são afetados pelas perturbações que ocorrem durante a preparação e coloração (DOLEZEL, 1997; MOTLEY *et al.*, 2000; NOIROT *et al.*, 2000; NOIROT *et al.*, 2003).

Segundo DOLEZEL, 1997, a seleção do padrão apropriado é crucial para a estimativa do tamanho do genoma nuclear. Esse padrão deve apresentar estabilidade genética, tamanho de genoma constante, ser facilmente manipulado e estar disponível em quantidades suficientes para análise (VILHAR *et al.*, 2001; DOLEZEL & BARTOS, 2005; GREILHUBER, 2005).

Entretanto, ao se utilizar células escamosas da cérvice uterina como padrão interno, deve-se levar em consideração a latência do HPV, pois a infecção leva a um conteúdo de DNA periplóide. Além disso, a infecção viral latente aumenta o coeficiente de variação das células de referência (GROTE *et al.*, 2004).

Segundo KISS *et al.*, 1992, a escolha de células de referência diplóide pode influenciar o nível de ploidia do câncer a ser analisado. DRESSLER & BARTOW, 1989, sustentam que as diferenças na intensidade fluorescente podem existir entre padrões de referência e tumor, ou seja, duas populações de células diplóides podem apresentar dois picos G0/G1 completamente separados no mesmo histograma de DNA. Este segundo pico diplóide pode ser falsamente interpretado como um pico aneuplóide por pessoas inexperientes descobrindo o campo de medida quantitativa de DNA (DRESSLER & BARTOW, 1989).

Um estudo realizado por KISS *et al.*, 1992, com câncer de

mama, demonstrou que o tecido escolhido como padrão de referência diplóide notadamente influenciou a posição do pico diplóide G0/G1 de ambos os tecidos normal e neoplásico no histograma de DNA.

Um importante problema já identificado em estudos de tamanho de genoma é a presença de diferentes valores de conteúdo de DNA atribuídos a um mesmo padrão (MENDONÇA, 2006). Segundo DOLEZEL *et al.*, 1998, há necessidade de uma padronização dos valores de referência para quantificação, uma vez que o uso de diferentes padrões pode conduzir a estimativas do conteúdo de DNA divergentes, numa mesma espécie.

No presente estudo foi utilizado o Sistema de Bethesda, como já mencionado, por ser uma terminologia que permite a comparação das estatísticas a nível internacional e também por oferecer superior reprodutibilidade em relação às outras classificações, uma vez que apresenta uma divisão binária simplificada e correlação direta com a ploidia (BOLLMANN *et al.*, 2001).

Na Europa, alguns países, como a Bulgária, têm adotado o Sistema Bethesda, enquanto outros, como a Alemanha requerem o uso de mais de um sistema (BOLLMANN *et al.*, 2001). No Brasil, os citopatologistas, geralmente mencionam classificações anteriores ao Sistema Bethesda (displasias ou NIC) nos laudos, pois as frequentes mudanças dos modos de classificação podem criar, nos clínicos, um sentimento de confusão ou imprecisão (GOMPEL & KOSS, 1997).

A ploidia de DNA é geralmente aceita como um confiável marcador de prospectiva malignidade (BOCKING & CHATELAIN, 1989; BIBBO *et al.*, 1988). Usando a citometria de imagem, a aneuploidia tem sido demonstrada em todos os tipos de SIL, mas a frequência de casos de aneuploidia é maior em NIC III, alcançando 88% de todos os casos (HANSELAAR *et al.*, 1998). Em geral, poliploidia está mais correlacionada com lesões cervicais benignas do que a aneuploidia, a qual está associada a procedimentos mais agressivos (BIBBO *et al.*, 1988).

Em estudo realizado por SHIRATA *et al.*, 2001, foi observada forte associação de diploidia e NIC I, bem como de diploidia e NIC II. Entretanto, NIC III apresentou baixo percentual de associação com diploidia e alto percentual com aneuploidia (SHIRATA *et al.*, 2001).

No presente estudo, foi possível observar a mesma característica, pois as amostras de LSIL (NIC I) (figura 5) e igualmente de ASC-US (figura 4) apresentaram conteúdo de DNA diplóide. O mesmo ocorreu com a amostra de HSIL (figura 7), que pela classificação de Richart, observada nos resultados da citologia, apresentou-se como NIC II e associada à DNA diplóide.

Nossos resultados, assim como os de SHIRATA *et al.*, 2001 demonstram claramente que NIC II (HSIL) tem um conteúdo de DNA similar ao de NIC I (LSIL) e ASC-US, que pode refletir um baixo potencial de progressão para malignidade. MONSONEGO *et al.*, 1997, encontraram associação de diploidia e NIC II em 46% dos casos e passaram a considerar diploidia e NIC I/II como uma lesão de baixo grau, enquanto aneuploidia e NIC I/II como uma lesão de alto grau, sendo que todos os NIC III foram considerados de alto grau em decorrência de sua associação com aneuploidia.

Segundo BOLLMANN *et al.*, 2003, lesões aneuplóides estão associadas com HSIL e com a integração do HPV. Entretanto, poliploidização em células escamosas de lesões exofíticas (condiloma) é também um fenômeno citopático bem descrito que ocorre devido à infecção pelo HPV de baixo risco oncogênico (CHATELAIN *et al.*, 1989).

A infecção pelo HPV é necessária, mas não suficiente para

desenvolver HSIL. Um importante fator para progressão é a persistência da infecção e expressão contínua de genes virais por um longo período de tempo (LORENZATO *et al.*, 2001). Cerca de 80% das infecções HPV são transientes (NOBBENHUIS *et al.*, 1999), entretanto, é bem estabelecido que somente mulheres com persistência de infecções pelo HPV de alto risco em qualquer amostra citologicamente anormal ou normal mostram lesões cervicais progressivas (LORENZATO *et al.*, 2001).

Além disso, a persistência da infecção pelo HPV leva a expressão de oncogenes virais, que podem induzir a mudanças cromossômicas no cariótipo do hospedeiro, finalmente levando a poliploidização (ZUR HAUSEN, 1994; ALTMANN *et al.*, 1994) seguida por aneuploidia (BOCKING *et al.*, 1994). Logo, o aumento do conteúdo de DNA nuclear para 4c e 8c não podem ser simplesmente interpretados como um achado desfavorável com potencial oncogênico (BOLLMANN *et al.*, 2003).

Em nosso estudo falta esta informação, mas fazendo uma analogia a estudos prévios pode-se reforçar a tendência de lesões intra-epiteliais escamosas estarem associadas com HPV oncogênico. Como observado, apenas um caso de LSIL (figura 6) apresentou conteúdo de DNA poliplóide. Este achado, bem como o de ASC-US (figura 3), pode estar associado com a infecção pelo HPV oncogênico, pois a infecção pelo HPV gera um histograma de DNA anormal (MULTHAUP *et al.*, 1993), em que as *stemline* estão fora da região euplóide (diplóide, tetraplóide ou octaplóide) em um nível definido de significância estatística (BOCKING & NGUYEN, 2004). Além do mais, a detecção de núcleos com um conteúdo de DNA > 5c (5cEE) incluindo $8c \pm 12,5\%$ (CHATELAIN *et al.*, 1989), como observado nesta pesquisa, caracteriza uma poliploidia euplóide, que pode estar associada à infecção pelo HPV (BOCKING & NGUYEN, 2004). Outro importante achado obtido por MULTHAUP *et al.*, 1993, foi a presença de histogramas diplóides em quatro casos de infecção pelo HPV, sugerindo que os subtipos de HPV de baixo risco não estão somente associados à poliploidia de DNA.

O aspecto discriminatório da técnica de citometria de imagem, observado na tabela 2, sugere uma reavaliação dos casos de ASC-US, LSIL e HSIL pela citopatologia, uma vez que os resultados encontrados são discordantes entre os dois métodos.

Segundo BOCKING *et al.* 1986, tem sido proposto que pacientes com um histograma de DNA normal podem ser acompanhadas em programas de *screening* geral, enquanto pacientes com um perfil de DNA anormal devem automaticamente passar por exame adicional, minimizando, com isso, os procedimentos cirúrgicos e os gastos com repetidos e desnecessários controles citológico, histológico e clínico em pacientes com ASC-US e LSIL DNA euplóide. No entanto, quando aneuploidia de DNA é detectada, uma intervenção cirúrgica deve ser realizada, a fim de evitar os custos que ocorrem quando carcinomas avançados requerem tratamento (BOCKING & NGUYEN, 2004).

Os resultados obtidos neste estudo também nos permitem inferir que o *screening* de rotina para câncer cervical pode ser aprimorado pela seguinte sequência: se o *screening* citomorfológico detecta ASC-US ou LSIL, a combinação de tipagem de HPV e medida de DNA podem ser realizadas para determinar o risco de progressão para HSIL. Se a tipagem de HPV é usada em *screening* primário, em amostras dentro dos limites normais e com infecção pelo HPV de alto risco, a medida de DNA pode ser subsequentemente realizada para estimar o risco de evolução para HSIL (LORENZATO *et al.*, 2001). Em ambas as sequências, a citometria de imagem pode assegurar uma estratégia de acompanhamento que é razoável para os órgãos de saúde e para a paciente.

TABELA I
Algoritmos para a diferenciação entre euploidia e aneuploidia em histogramas de DNA da cérvix uterina (BOCKING & NGUYEN, 2004).

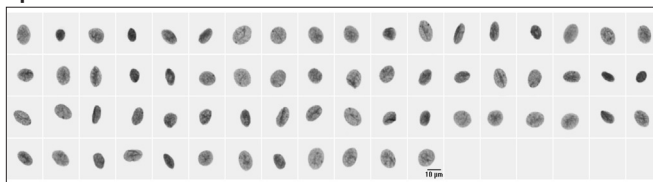
DNA-euplóide	Diplóide: $1,8c \leq STL \leq 2,2c$; 5cEE = 0 Poliplóide: $1,8c \leq STL \leq 2,2c$ ou $3,6c \leq STL \leq 4,4c$; 9cEE = 0
DNA-aneuplóide	<i>Stemline</i> – aneuploidia: STL nem diplóide nem poliplóide <i>Single cell</i> – aneuploidia: 9cEE > 0

STL = stemline; 5cEE = Eventos excedentes a 5c; 9cEE: Eventos excedentes a 9c;

TABELA II
Distribuição da ploidia nas amostras citológicas.

Citologia	Diploidia	Poliploidia
NILM (caso Pil_02)	D	-
ASC-US (caso Pil_05)	-	D
ASC-US (caso T_06)	D	-
LSIL (caso T_03)	D	-
LSIL (caso T_13)	-	D
HSIL (caso Pil_04)	D	-

Epitélio Bucal



Epitélio Cervical (caso Pil_02)

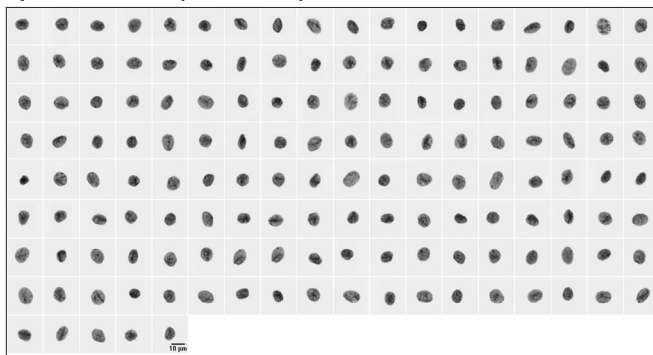


Figura 1. Amostra do conjunto de imagens capturadas de núcleos de células epiteliais da cérvix (caso Pil_02) e do padrão epitélio bucal, utilizada para fazer a medida da densidade óptica integrada. Barra 10 µm.

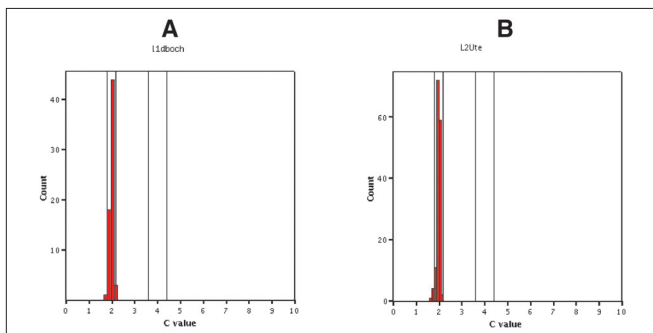


Figura 2. Histogramas de DNA de uma amostra do padrão epitélio bucal (A) e de uma amostra de epitélio cervical (caso Pil_02) (B), mostrando o número de células medidas e seu correspondente conteúdo do valor-C de DNA. DNA diplóide (normal), Stemline em 2c; 5cEE = 0 e 9cEE = 0 (B).

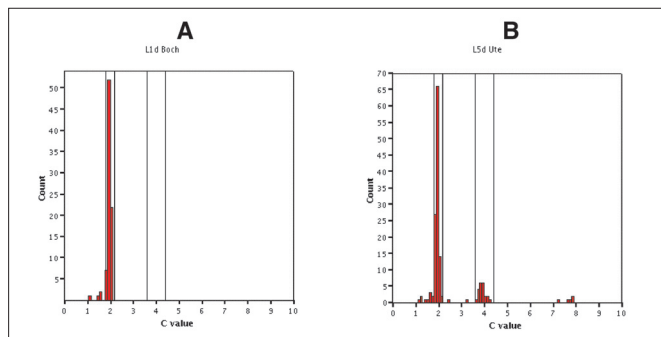


Figura 3. Histogramas de DNA de uma amostra do padrão epitélio bucal (A) e de uma amostra de epitélio cervical (caso Pil_05) (B), mostrando o número de células medidas e seu correspondente conteúdo do valor-C de DNA. DNA poliploide, Stemline em 2c e picos menores em 4c e 8c; 5cEE > 0 e 9cEE = 0 (B).

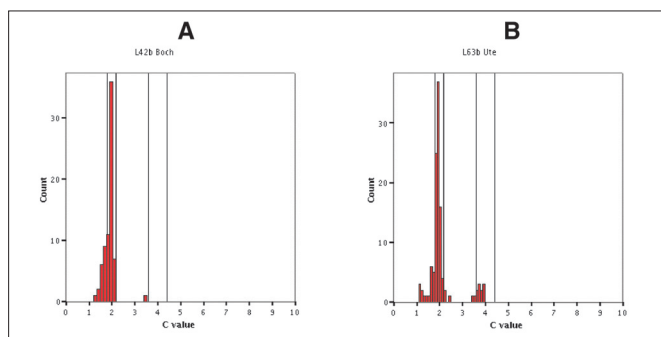


Figura 4. Histogramas de DNA de uma amostra do padrão epitélio bucal (A) e de uma amostra de epitélio cervical (caso T_06) (B), mostrando o número de células medidas e seu correspondente conteúdo do valor-C de DNA. DNA diplóide, Stemline em 2c e pico menor em 4c; 5cEE = 0 e 9cEE = 0 (B).

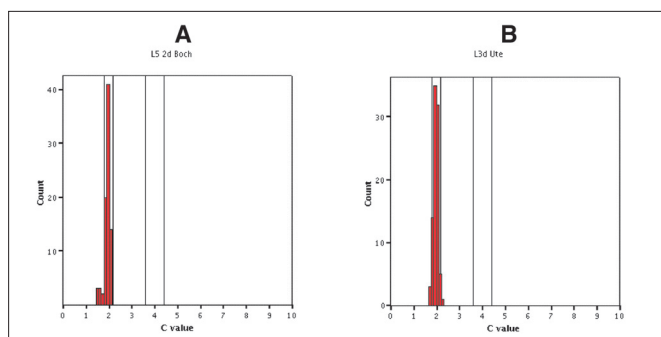


Figura 5. Histogramas de DNA de uma amostra do padrão epitélio bucal (A) e de uma amostra de epitélio cervical (caso T_03) (B), mostrando o número de células medidas e seu correspondente conteúdo do valor-C de DNA. DNA diplóide, Stemline em 2c; 5cEE = 0 e 9cEE = 0 (B).

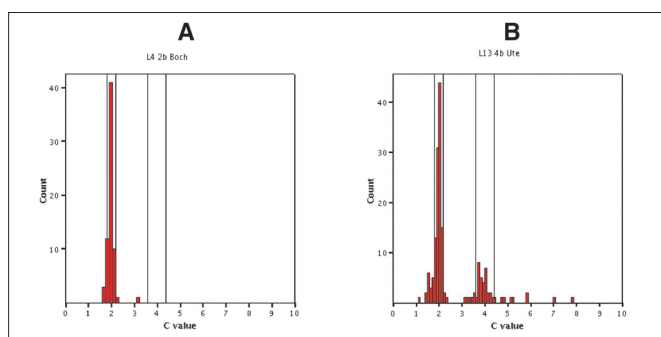


Figura 6. Histogramas de DNA de uma amostra do padrão epitélio bucal (A) e de uma amostra de epitélio cervical (caso T_13) (B), mostrando o número de células medidas e seu correspondente conteúdo do valor-C de DNA. DNA poliploide, Stemline em 2c e picos menores em 4c e 8c; 5cEE > 0 e 9cEE = 0 (B).

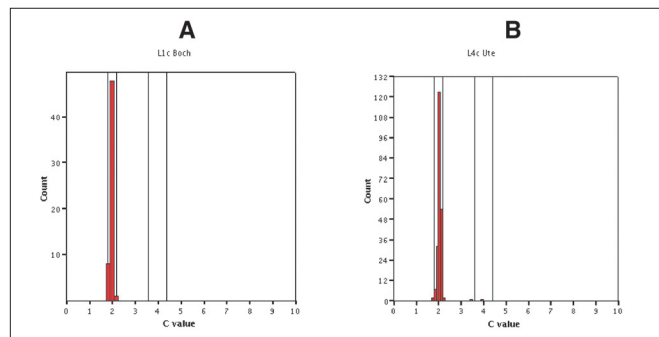


Figura 7. Histogramas de DNA de uma amostra do padrão epitélio bucal (A) e de uma amostra de epitélio cervical (caso Pil_04) (B), mostrando o número de células medidas e seu correspondente conteúdo do valor-C de DNA. DNA diplóide, Stemline em 2c; 5cEE = 0 e 9cEE = 0 (B).

CONCLUSÕES

Nos procedimentos utilizados para quantificação de DNA nuclear por citometria de imagem foi essencial o controle de todos os passos dos experimentos, da fixação aos procedimentos de determinação da DOI. Dada a não existência de critérios bem padronizados para estudos de citometria de imagem em amostras de Papanicolaou no Brasil. As metodologias descritas por MENDONÇA, 2006, para avaliação do sistema de análise de imagem, que incluíram os testes de estabilidade, linearidade e uniformidade das medidas de DOI dos núcleos, asseguraram a adequação do sistema de análise de imagem utilizado para a realização de medidas densitométricas em amostras da cérvix uterina.

Os procedimentos metodológicos adotados na citometria de imagem, envolvendo o preparo do material citogenético, a fixação, a reação de hidrólise, a etapa de coloração do DNA pela reação de Feulgen, foram apropriados para obtenção dos valores de densidade óptica integrada (DOI), que foram reescalados em termos de valor-C relativo à ploidia do DNA. O CV da razão entre a MODA da DOI das células de referência e das células não-patológicas G0/G1, observado no presente estudo, foi igual a 4,1%, indicando adequada calibração dos equipamentos de microscopia e de análise de imagem, o que permitiu verificar diferenças de conteúdo de DNA entre células epiteliais normais de colo uterino, ASC-US, LSIL e HSIL.

A análise do DNA de lesões cervicais revelou resultados diplóides e poliploides, confirmando a utilidade da citometria de imagem como um método adjuvante adequado para diagnóstico e prognóstico de lesões intra-epiteliais cervicais e carcinoma cervical invasivo. As lesões diplóides ou poliploides regredem por estarem associadas a subtipos de HPV de baixo risco oncogênico, enquanto lesões aneuploides persistem ou progridem para câncer por estarem associadas a subtipos de HPV de alto risco oncogênico.

A utilização de um fotomicroscópio Olympus™ BX 60 associado com um sistema de captura e análise de imagem, e um programa estatístico (SPSS 11.4 versão Macintosh™), empregado neste estudo, permitiu a realização das análises dos epitélios por citometria de imagem, com custos relativamente baixos, quando comparado aos sistemas de citometria utilizados nos Países de primeiro mundo. A implementação do sistema de captura e análise de imagem, que se mostrou adequado e eficiente na presente análise, pode facilitar o seu uso na rotina laboratorial em diversos centros de prevenção e controle de câncer de colo uterino.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pela bolsa de mestrado ao primeiro autor e ao apoio da Digene®, de São Paulo, e Luc-Base®, de Florianópolis, pela doação dos Kits utilizados nesta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALTMANN, A.; JOCHMUS, I.; ROSL, F. Intra and extracellular control mechanisms of human papillomavirus infection. *Intervirology*. v. 37, p. 180-188, 1994.
- BIBBO, M., et al. DNA ploidy profiles as prognostic indicators in CIN lesions. *Am J Clin Pathol*. v. 154, p. 261-265, 1988.
- BOCKING, A., et al. DNA-cytometric diagnosis of prospective malignancy in borderline lesions of the uterine cervix. *Acta Cytologica*. v. 30, n. 6, p. 608-615, 1986.
- BOCKING, A.; CHATELAIN, R. Diagnostic and prognostic value of DNA cytometry in gynecology. *Analyt Quant Cytol Histol*. v. 11, p. 177-186, 1989.
- BOCKING, A., et al. Static DNA cytometry. Biological background, technique and diagnostic interpretation. In.: WIED, G.L.; BARTELS, P.H.; ROSENTHAL, D.L.; SCHENCK, U. *Compendium on the Computerized Cytology and Histology Laboratory. Tutorial of Cytology*. Chicago, USA. 1994.
- BOCKING, A. DNA measurement: When and why? In.: *Compendium on Quality Assurance, Proficiency Testing and Workload Limitations in Clinical Cytology*. Chicago. 1995.
- BOCKING, A.; MOTHERBY, H. Assessment of cervical dysplasia with DNA image cytometry. *Pathology*. v. 20, p. 25-33, 1999.
- BOCKING, A.; NGUYEN, V.Q.H. Diagnostic and prognostic use of DNA image cytometry in cervical squamous intraepithelial lesions and invasive carcinoma. *Cancer Cytopathology*. v. 102, n. 1, p. 41-54, 2004.
- BOLLMANN, R., et al. DNA cytometry confirms the utility of the Bethesda System for the classification of Papanicolaou smears. *Cancer Cytopathology*. v. 93, n. 3, p. 222-228, 2001.
- BOLLMANN, R., et al. Human Papillomavirus typing and DNA ploidy determination of squamous intraepithelial lesions in liquid-based cytologic samples. *Cancer Cytopathology*. v. 99, n. 1, p. 57-62, 2003.
- BRESCHIA, R., et al. The prognostic significance of nuclear DNA content in malignant epithelial tumors of the ovary. *Cancer*. v. 65, p. 141-147, 1990.
- CAREY, F.A. Measurement of nuclear DNA content in histological and cytological specimens principles and applications. *The Journal of Pathology*. v. 172, p. 307-312, 1994.
- CHATELAIN, R., et al. Diagnosis of Prospective Malignancy in Koilocytic Dysplasias of the Cervix with DNA cytometry. *The Journal of Reproductive Medicine*. v. 34, n.8, p.505-510, 1989.
- CHIECO, P.; DERENZINI, M. The Feulgen reaction 75 years on. *Histochemistry and Cellular Biology*. v. 111, p. 345-358, 1999.
- DOLEZEL, J. Application of flow cytometry for the study of plant genomes. *Journal of Applied Genetics*. v. 38, n.3, p. 285-302, 1997.
- DOLEZEL, J., et al. Plant genome size estimation by flow cytometry: inter-laboratory comparison. *Annals of Botany*. v. 82, p. 17-26, 1998.
- DOLEZEL, J.; BARTOS, J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of Botany*. v. 95, p. 99-110, 2005.
- DRESSLER, L.G.; BARTOW, S.A. DNA flow cytometry in solid tumors: practical aspects and clinical application. *Sem Diag Pathol*. v. 6, p.55, 1989.
- GOMPEL, C.; KOSS, L. *Citologia ginecológica e suas bases anatomoclínicas*. São Paulo. Manole, 1997.
- GREILHUBER, J. Intraspecific variation in genome size in angiosperms – identifying its existence. *Annals of Botany*. v. 95, p. 91-98, 2005.
- GROTE, H.J., et al. Identification of Progressive Cervical Epithelial Cell Abnormalities using DNA image cytometry. *Cancer Cytopathology*. v. 102, n. 6, p. 373-379, 2004.
- HANSELAAR, A.G.J.M., et al. DNA cytometry of progressive and regressive cervical intraepithelial neoplasia. *Analytical Cellular Pathology*. v. 16, p. 11-27, 1998.
- HARDIE, D. C.; GREGORY, T.R.; HEBERT, P.D.N. From pixels to picograms: a beginners' guide to genome quantification by Feulgen image analysis densitometry. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. v. 50, n. 6, p. 735-749, 2002.
- HAROSKE, G., et al. 1997 ESACP consensus report on diagnostic image cytometry. Part I: Basic considerations and recommendations for preparation, measurement and interpretation. *Analytical Cellular Pathology*. v. 17, p. 189-200, 1998.
- HAROSKE, G., et al. Fourth updated ESACP consensus report on diagnostic DNA image cytometry. *Analytical Cellular Pathology*. v. 23, p. 89-95, 2001.
- KIMBAL, R.E., et al. Flow cytometric analysis of lymph node metastases in advanced ovarian cancer: clinical and biologic significance. *American Journal Obstetric and Gynecologic*. v. 176, p. 1319-1327, 1996.
- KISS, R., et al. Modification of tumor ploidy level via the choice of tissue taken as diploid reference in the digital cell image analysis of Feulgen-stained nuclei. *Methods in Pathology*. v. 5, n. 6. p. 655-660, 1992.
- KUHN, L., et al. Human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening in low-resource settings. *J Natl Cancer Inst*. v. 92, p. 818-825, 2000.
- LAGE, J.M., et al. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in ovarian tumors: association of ploidy with tumor type, histologic grade and clinical stage. *Cancer*. v. 69, p. 2668-2675, 1992.
- LORENZATO, M., et al. DNA image cytometry and human papillomavirus (HPV) detection help to select smears at high risk of high-grade cervical lesions. *Journal of Pathology*. v. 194, p. 171-176, 2001.
- McDERMOTT, N., et al. Ploidy profile of morphologically normal squamous epithelium adjacent to high grade cervical intraepithelial neoplasia. *British Journal of Obstetrics and Gynecology*. v. 104, p. 623-625, 1997.
- MENDONÇA, M. A. C. Determinação do conteúdo de DNA em Pimentão (*Capsicum annuum* L.) por citometria de Plantas. 2006. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.
- MONSONEGO, J., et al. Simultaneous effects of aneuploidy and oncogenic human papillomavirus on histological grade of cervical intraepithelial neoplasia. *British Journal of Obstetrics and Gynecology*. v. 104, p. 723-727, 1997.
- MOTLEY, J.; YOKOYA, K.; ROBERTS, A.V. "D-Flowering" – The Flow Cytometry of plant DNA. In.: DIAMOND, R.A.; DEMAGGIO, S. (Eds). *In Living Color – Protocols in flow cytometry and cell sorting*. [S.l.]: Springer Lab Manual, 2000.
- MULTHAUPT, H., et al. Combined analysis of cervical smears. *Acta Cytologica*. v. 37, n. 3, p. 373-378, 1993.
- NOBBENHUIS, M.A.E., et al. Relation of human papilloma status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. *Lancet*. v. 354, p. 20-25, 1999.
- NGUYEN, V. Q. H., et al. Interobserver reproducibility of DNA-image-cytometry in ASCUS or higher cervical cytology. *Cellular Oncology*. v. 26, p. 143-150, 2004.
- NOIROT, M., et al. Nucleus cytosol interactions – a source of stoichiometric error in flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. *Annals of Botany*. v. 86, p. 309-316, 2000.
- NOIROT, M., et al. Effects of caffeine and chlorogenic acid on propidium iodide accessibility to DNA: consequences on genome size evaluation in coffee tree. *Annals of Botany*. v. 92, p. 259-264, 2003.
- ONOFRE, A.S.C.; LIMA, C.E.Q.; BAMBIRRA, E.A. Citometria estática nas neoplasias intra-epiteliais cervicais. *Jornal da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas*. n. 3, p. 12-13, 2003.
- PEREIRA, S.M.M., et al. Avaliação da celularidade citológica em preparados de base líquida. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. v. 62, n. 1, p. 35-39, 2003.
- PUECH, M.; GIROUD, F. Standardisation of DNA quantitation by image analysis: quality control of instrumentation. *Cytometry*. v. 36, p. 11-17, 1999.
- SHIRATA, N.K., et al. Nuclear DNA content analysis by static cytometry in cervical intraepithelial lesions using retrospective series of previously stained Pap smears. *Adv Clin Path*. v. 5, p.87-91, 2001.
- SOLOMON, D., NAYAR, R. *Sistema Bethesda para Citopatologia Cervicovaginal*. 2 ed. Rio de Janeiro. Revinter, 2005.
- VILHAR, B., et al. Plant genome size measurement with DNA image cytometry. *Annals of Botany*. v. 87, p. 719-728, 2001.
- VILHAR, B.; DERMASTIA, M. Standardization of instrumentation in plant DNA image cytometry. *Acta Botanica Croatica*. v. 61, n. 1, p. 11-26, 2002.
- WALSH, C.B., et al. DNA quantification is technically feasible and of value in cervical smears samples: possible applications for determination of progression in low grade dyskaryosis. *Cytopathology*. v. 6, p. 88-94, 1995.
- ZUR HAUSEN, H. Molecular pathogenesis of cancer of the cervix and its causation by specific human papillomavirus types. *Curr Top Microbiol Immunol*. v. 186, p. 131-156, 1994.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Dr. Carlos Roberto de Carvalho
: Universidade Federal de Viçosa
Departamento de Biologia Geral
Laboratório de Citogenética e Citometria
CEP: 36570-000 Viçosa – MG
Telefone: (0xx31) 3899-2568
E-mail: ccarvalh@ufv.br

PRÊMIO HERMES PARDINI DE HORMONOLOGIA

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

- 1) O Prêmio Hermes Pardini de Hormonologia é promovido pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - SBAC, com o patrocínio do Instituto Hermes Pardini;
- 2) O Prêmio será no valor de 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 Hermes Pardini de Hormonologia tem por objetivos;
- 1) Estimular o desenvolvimento de pesquisas na área de Hormônios no País; e
 - 2) Premiar o melhor trabalho de hormonologia 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 Hermes Pardini de Hormonologia 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 Hermes Pardini de Hormonologia, 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 Hermes Pardini de Hormonologia é indivisível e será conferido a apenas um trabalho, ficando a inteiro critério dos autores seu eventual rateio;
- 2) O Trabalho concorrente ao Prêmio Hermes Pardini de Hormonologia, 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 do prêmio, 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 2006.

Dr. Ulisses Tuma
Presidente

Informações:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio Hermes Pardini de Hormonologia
Rua Vicente Licínio, 95 • Tijuca • 20270-902 • Rio de Janeiro • RJ



Programa Nacional de Controle de Qualidade

Patrocinado pela



Provedor de ensaios de proficiência para Laboratórios Clínicos, Bancos de Sangue e Organizações de Diagnóstico "in vitro" e Alimentos

Somente quem é líder no setor pode garantir maior confiabilidade e segurança aos seus laudos!

Por que escolher o PNCQ ?

- ☒ **Remessa mensal do Kit Controle**
- ☒ **Resultados em 48 horas e disponível pela Internet**
- ☒ **Melhor preço do mercado**
- ☒ **Maior credibilidade para o seu laboratório**
- ☒ **Total apoio para o controle interno da qualidade do seu laboratório**
- ☒ **Certificados e selos de participação que transmitem maior confiança em seus laudos**

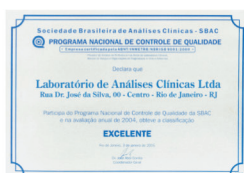
O maior e melhor provedor de ensaio de proficiência para laboratórios da América Latina



Certificados de Participação:
Concedido aos laboratórios participantes
após 01 ano classificados na categoria EXCELENTE



Certificados de Excelência Laboratorial:
Categoria OURO
Para os Laboratórios Participantes
com 10 anos classificados na categoria EXCELENTE



Placa de Alumínio Escovado:
uma importante ferramenta de
divulgação junto ao público



Selo de Qualidade:
para ser fixado nos
laudos para o seu cliente



Kit PNCQ:
enviado mensalmente aos
laboratórios participantes



Agora com consultoria para implantação da RDC 302.
Entre em contato conosco agora e participe
Programa Nacional de Controle de Qualidade

www.pncq.org.br

pncq@pncq.org.br

LIGUE AGORA: 2103 4000