

R B A C

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

SUMÁRIO

Difilobotríase: Relato de caso no município de Ribeirão Preto, SP, Brasil.....	163
<i>Divani M. Capuano; Madalena Hisako T. Okino; Hercília Renata M. de Mattos & Domingas M. A. G. Vieira Torres</i>	
Diphyllobothriasis: a case report of a human infection in Ribeirão Preto, SP, Brazil	
Prevalência de <i>Staphylococcus aureus</i> em manipuladores de alimentos das creches municipais da cidade do Natal/RN.....	165
<i>Caroline Addison Carvalho Xavier; Cátia França de Oliveira Oporto, Marli Pinheiro da Silva, Ivanaldo Amâncio da Silveira & Maiza Rocha de Abrantes</i>	
Prevalence of <i>Staphylococcus aureus</i> in food handlers from grades schools located in Natal city, RN, Brazil	
Viroses respiratórias emergentes: os vírus e seu diagnóstico.....	169
<i>Luciane Teresinha Lovato, Mário Celso Sperotto Brum & Sydney Hartz Alves</i>	
Viroses respiratory emergent: the viruses and its diagnosis	
Perfil de suscetibilidade à antibióticos de amostras de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isoladas no centro de diagnóstico da Unimed Belém - Pará.....	175
<i>Patrícia Bentes Marques; Antonia Benedita Rodrigues Vieira; Maria das Graças Farias; Rosilene de Oliveira Fernandes da Silva & Jose Maria dos Santos Vieira</i>	
Antimicrobials susceptibility of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strains isolated in Unimed-Belém diagnostic center	
Agentes microbiológicos em exames citopatológicos: estudo de prevalência.....	179
<i>Andrea Alves Ribeiro, Daniel Fernandes de Oliveira, Mara Cristina Nolasco Sampaio, Megmar Aparecida dos Santos Carneiro, Suelene Brito do Nascimento Tavares, Nadja Lindany Alves de Souza, Gislaíne Aparecida Fonseca-Carvasan, Joana Darc Ximenes Alcanfor & Sílvia Helena Rabelo dos Santos</i>	
Microbiologic agents in cervical smears: a study of prevalence	
Biofilme detectado em ponta de cateter venoso central por cultura usando método quantitativo.....	183
<i>Anisio Storti, Antonio Carlos Pizzolitto, Richard A. Stein & Elisabeth Loshchagin Pizzolitto</i>	
Biofilm detection on central venous catheter using a quantitative culture method	
Avaliação do ertapenem frente a bacilos gram negativos produtores de enzima beta lactamase de espectro expandido (ESBL).....	189
<i>Everardo Albuquerque Menezes, Erica Gonçalves Barreto Alves, Francisco Afrânio Cunha, Maria Rozellê Ferreira Angelo, Maria Núbia Cavalcante Salviano & Inácio Regis Nascimento Oliveira</i>	
Evaluation of the ertapenem front to negative bacilli gram enzyme producers beta lactamase of expanded specter (ESBL)	
Espécies fúngicas isoladas a partir de unhas demanipuladores de alimentos.....	193
<i>Kedma de Magalhães Lima, Rossana Sette de Melo Rêgo & Francisco Montenegro</i>	
Fungal species isolated from food manipulators' nails	
Determinação do limite mínimo de detecção da técnica de pcr "semi-nested" para <i>Neisseria meningitidis</i>, <i>Haemophilus influenzae</i> e <i>Streptococcus pneumoniae</i>.....	197
<i>Enio Paulo Teló, Alice Beatriz M P Machado, Virginia M Schmitt & Marisa Chesky</i>	
Determination of detection minimum limit by polymerase chain reaction seminested to <i>Neisseria meningitidis</i>, <i>Haemophilus influenzae</i> and <i>Streptococcus pneumoniae</i>	
Anticorpos contra o citoplasma de neutrófilos.....	201
<i>Bruno Costa da Silva, Helena Decker, Michelle Andriqueti, Márcia Terezinha Siqueira Volpato & Raquel Maria Teixeira</i>	
Antineutrophil cytoplasmic antibodies	
Avaliação da eficácia das reações de imunofluorescência indireta e hemoaglutinação indireta na investigação sorológica para toxoplasmose em parturientes e recém-natos.....	205
<i>Roberto Chaves de Vasconcelos; Janaina Chaves Câmara (MSc); Dany Geraldo Kramer Cavalcanti e Silva (MSc); Rosa Maria Vaz (MD); Valéria Cristina Ribeiro Dantas (MSc); Ligiane Revoredo Bezerra da Cunha Lima; Valéria Soraya de Farias Sales (MD, MSc, PhD) & Geraldo Barroso Cavalcanti Júnior (MSc, PhD)</i>	
Efficacy evaluation of the indirect immunofluorescence and indirect hemagglutination reaction in pregnancy and new-born serologic toxoplasmosis investigation	
Microbiota fúngica presente em diversos setores de um hospital público em Campina Grande - PB.....	213
<i>Egberto Santos Carmo, Lindomar de Farias Belém, Raissa Mayer R. Catão, Edeltrudes de Oliveira Lima, Irani Lopes da Silveira & Luiza Herbene Macedo Soares</i>	
Fungic microbiotic present in various setores of public hospital in Campina Grande - PB	
Avaliação do método de Papanicolaou para triagem de algumas infecções cervico-vaginais.....	217
<i>Márcia Carolina Luque Martins, Cinthia Gandolfi Bøer, Terezinha Inez Estivalet Svidzinski, Luizinho Gonzaga Donida, Paulo Fernando Alves Martins, Fernanda Narciso S. Boscoli & Márcia Edilaine Lopes Consolaro</i>	
Evaluation of the method of Papanicolaou for screening of some cervico-vaginal infections	
Prevalência de síndrome metabólica e estratificação de risco para DAC em pacientes hipertensos-tabagistas.....	223
<i>Nilton Rosini; Andreza Diegoli Rosini; Donaída Maria Mousse & Guilherme Diegoli Rosini</i>	
Metabolic syndrome prevalence and risk stratification for coronary artery disease in hypertension-tobacco patients	
Alterações nas dosagens do hormônio tireostimulante em pacientes atendidos em um laboratório escola.....	227
<i>Jucelene Marchi Blatt & Zuleika Machado Landmann</i>	
Alterations in the dosages of thyroid-stimulatory hormone in patients taken care of in a laboratory school	
Câncer colo retal no Brasil: consumo de grãos integrais como prevenção.....	231
<i>Patrícia Haas; Alex Anton & Alicia de Francisco</i>	
Colorectal cancer in Brazil: whole grains consumption as prevention	
Correlação entre eosinofilia e protozoose por <i>Giardia lamblia</i> em crianças.....	237
<i>Paulo Roberto de Melo-Reis, José Alexandre Filizola Diniz-Filho, Karla Greick Batista Dias-Penna, Sérgio Henrique Nascente Costa, Mauro Meira de Mesquita, Jairo Batista da Silva, Frank de Souza Castro & Lee Chen Chen</i>	
Correlation between eosinophilia and parasitic infections for <i>Giardia lamblia</i> in children	

3

VOLUME 39

2007



Prezados colegas,

A *Sociedade Brasileira de Análises Clínicas tem, em conjunto com outras entidades laboratoriais, atuado diretamente nos problemas que todo o mercado tem enfrentado. Problemas comuns como reajuste na tabela do Sistema Único de Saúde, redução da carga tributária, posicionamento dos grandes laboratórios em relação aos pequenos e fiscalização dos órgãos públicos de saúde com relação a RDC 302.*

O que ressalto a todos é que este momento atual dentro do mercado é tão intenso e de uma importância vital pelo simples motivo de que as entidades estão aprendendo a trabalhar em conjunto por uma causa comum: solucionar os problemas existentes.

Isso é realmente importante e inédito.

A SBAC efetivamente junto com as outras entidades tem realizado um trabalho extremamente profissional de costura política junto a parlamentares (deputados e senadores), órgãos federais, principalmente junto a Frente Parlamentar de Saúde, a ANVISA e o CADE, estaduais e até municipais,.

O objetivo maior é conscientizar aos decisores da cúpula política quanto a atual situação crítica que vivem os mais de 12.000 laboratórios de todo o Brasil.

Em paralelo, a SBAC continua atuando como a maior entidade científica na área laboratorial no país, realizando cursos e congressos da mais alta qualidade.

Em agosto, comemoramos o aumento crescente de participantes nos dois maiores programas de qualidade laboratorial no país, o PNCQ, Programa Nacional de Controle de Qualidade, e o DICQ Sistema Nacional de Acreditação.

Realizamos este ano dois dos maiores congressos da história da SBAC, o 6º. Congresso Regional do Nordeste em Maceió e o 34º. Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, em Belo Horizonte, com um público recorde em ambos.

Agora estamos nos preparando para o 8º. Congresso Regional da Região Centro-Oeste, em Goiânia.

Participe de sua sociedade. Participe dos cursos, congressos e eventos. Opine, critique, mas não se cale. Esta é, sem dúvida, a melhor contribuição que cada um dos associados da SBAC pode dar. Sua participação pode ajudar a construir um mercado cada vez melhor.

Nos veremos em Goiânia, de 11 a 14 de novembro de 2007.

Até lá!

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 Dominguez 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 (RJ)



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 - ASSOCIACION 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. Marcelo Pilonetto (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 - Associação Mercosur de Normalização:

Dr. Irineu Keiserman Grinberg (RS), Dr. José Abol Corrêa (RJ), Dr. Luiz Fernando Barcelos (RS) e Dr. Mateus Mandu de Souza (RJ)

ONA – Organização Nacional de Acreditação:

Dr. José Abol Corrêa (RJ)

Governmental: 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 Maira Loureiro Colnago (RJ), Dr. Estevão José Colnago (RJ), Dr. Francisco Edison Pacifici Guimarães (RJ), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Dr. Marcos Kneip Fleury (RJ), 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. Petrónio Primo Coêlho - Secretário: Dr. Anderson Lobo Alvim - Tesoureiro: Dr. Luiz Roberto de Carvalho;

Ceará: Presidente: Dr. Francisco Einstein do Nascimento - Vice-Presidente: Dr. José Antonio Perez Silveira - Secretária: Dra. Maria Guilhermina Jaborandy Rodrigues - Tesoureiro: Dra. Zirlane Castelo Branco Coelho - Tesoureira Adjunta: Dra. Maria Iracema de Aguiar Patrício;

Distrito Federal: Presidente: Dr. Antônio Alves de Sousa - Vice-Presidente: Dr. Paulo Roberto Sabino Júnior - Secretário: Dr. José Persival Rico - Tesoureiro: Dr. Hélio José de Araújo;

Goias: Presidente: Dr. Elias José Cury Júnior - Vice-Presidente: Dr. Ulisses Tuma - Secretária: Dra. Cristina Lobo Batista de A. Bastos - Tesoureira: Dra. Maria Ordália Ferro Barbosa;

Minas Gerais: Presidente: Dr. José Ronaldo Cardoso - Vice-Presidente: Dr. José Alair Couto - Secretário: Dr. Vicente Odail de Souza Espíndola - Tesoureiro: Dr. Glauco de Paulo B. Silveira;

Paraná: Presidente: Dr. Marcelo Pilonetto - Vice-Presidente: Dr. Paulo Hatschbach - Secretário: Dr. Samuel Ricardo Comar - Tesoureiro: Dr. Luciano André Perini;

Pernambuco: Presidente: Dr. Jurandi David da Silva - Vice-Presidente: Dr. João Gonçalves Júnior - Secretária: Dra. Maria Amélia Vieira Maciel - Tesoureiro: Dr. José Araújo de Carvalho;

Rio Grande do Norte: Presidente: Dra. Geruza Maria Caldas Maia - Vice-Presidente: Dra. Lenira da Silva Costa - Secretária Geral: Dra. Andréa Luciana Araújo da C. Fernandes - Secretária: Maria da Conceição Silva Fernandes - Tesoureiro: Waldenilson Dutra Germano da Silva - Tesoureira Adjunta: Dra. Dóris Cavalcante Huguenin;

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

DELEGADOS DA SOCIEDADE

Alagoas: Dr. José Pereira Mendes Júnior; **Amazonas:** Dr. João Avelino Neto; **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. Glouberg Nobrega dos Santos; **Rondônia/Acre:** Dra. Alba Lucia Cordeiro Alves; **Santa Catarina:** Dr. Caio Roberto Salvinio; **São Paulo:** Dr. Marcos Machado Ferreira; **Sergipe:** Dra. Maria da Conceição L. Oliveira; **Tocantins:** Dr. Francisco Wellington Macedo.

Difilobotríase: Relato de caso no município de Ribeirão Preto, SP, Brasil

Diphyllobothriasis: a case report of a human infection in Ribeirão Preto, SP, Brazil

Divani M. Capuano¹; Madalena Hisako T. Okino¹; Hercília Renata M. de Mattos² & Domingas M. A. G. Vieira Torres³

RESUMO - A difilobotríase é uma parasitose intestinal causada pela tênia do peixe, associada à ingestão de peixe cru ou mal-cozido. Este relato descreve o primeiro caso de difilobotríase autóctone em um estudante de 22 anos do município de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. O diagnóstico foi realizado pela clarificação das proglótides e pelo encontro de ovos operculados no exame microscópico das fezes do paciente. A investigação epidemiológica demonstrou que a fonte de infecção neste caso esteve relacionada à ingestão de sashimi de salmão cru.

PALAVRAS-CHAVE - Difilobotríase; Caso humano; tênia do peixe.

SUMMARY - *Diphyllobothriasis* is an intestinal parasitosis caused by the fish tapeworm, associated to the consumption of raw or undercooked fish. This report describes the first autochthonous case of diphyllobothriasis in a 22 year-old, man, student living in Ribeirão Preto city, State of São Paulo, Brazil. The diagnosis was obtained through the proglottids clarification and the presence of operculated eggs in the patient's feces on microscopical examination. Epidemiologic investigation showed that the infection source in this case was the ingestion of raw salmon sashimi.

KEYWORDS - *Diphyllobothriasis*; Human case; fish tapeworm.

INTRODUÇÃO

A difilobotríase humana é uma parasitose intestinal causada pela tênia do peixe, decorrente da ingestão de peixes crus, mal cozidos ou defumados, contaminados com a larva infectante. Esta se fixa no intestino delgado, evoluindo para a tênia adulta que passa a liberar ovos nas fezes cerca de um mês após a infecção^{2,5}. O verme adulto pode permanecer no intestino humano por 25 anos, podendo atingir mais de dez metros de comprimento, com 3.000 proglótides^{2,5}. Além do homem, diversos mamíferos e aves podem ser infectados^{2,5}.

A infecção humana pode variar desde casos assintomáticos a manifestações clínicas como dor abdominal, diarreia, flatulência e vômitos. Já foram relatadas a ocorrência de anemia megaloblástica devido à deficiência de vitamina B 12 em casos de parasitismo prolongado, e de obstrução intestinal na infecção maciça^{2,5}.

A difilobotríase humana têm sido registrada na América do Norte, Europa, Ásia, Japão e em países da América do Sul como Argentina, Peru e Chile^{1,3,6,8,9,12,15}. Dentre cerca de 50 espécies conhecidas, 13 têm sido reportadas a infecção humana, mas somente *D. latum* e *D. pacificum* estão associadas a casos humanos na América do Sul^{1,2,9,10,11,12,14,15}. A presença desta parasitose na América do Sul é antiga, pois *D. pacificum* foi identificado em coprólites de múmias com 4.000 a 5.000 anos⁷. No Brasil, o primeiro caso humano de difilobotríase foi reportado por Santos e Faro (2005)¹¹, em setembro de 2004 na cidade de Salvador, BA e mais recentemente, Tavares *et al* (2005)¹⁴, relataram cinco casos na cidade do Rio de Janeiro, RJ, associados ao consumo de sushi e sashimi. No Estado de São Paulo, os primeiros casos autóctones foram registrados em março de 2005 na capital paulista, atingindo 45 casos até maio de 2005, todos associados ao consumo de salmão cru⁴. Sampaio *et al* (2005)¹⁰, através do estudo por microscopia eletrônica de vermes adultos eliminados por alguns pacientes, concluíram que a espécie implicada nos casos de infecção humana no muni-

cípio de São Paulo, foi o *D. latum*.

No presente trabalho relatamos o primeiro caso autóctone de difilobotríase humana em Ribeirão Preto, SP.

RELATO DO CASO

Em abril de 2005, um estudante universitário de 22 anos, sexo masculino, branco, residente em Ribeirão Preto, SP, buscou atendimento médico no serviço público municipal de saúde, após eliminação espontânea de proglótides de tênia (Figura 1). No momento da consulta, referiu que há quatro meses vinha apresentando náuseas, flatulência, diarreia, dor abdominal e perda de peso. As proglótides e três amostras de fezes foram encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto. No laboratório, as fezes foram submetidas aos métodos de Kato e da sedimentação espontânea e as proglótides foram clarificadas pelo lactofenol. O exame coproparasitológico revelou a presença de ovos operculados, medindo entre 40 a 50 µm de largura e 60 a 70 µm de comprimento, de *Diphyllobothrium* sp. (Figura 2). As proglótides foram identificadas como de *Diphyllobothrium* sp. O paciente foi tratado com uma dose única de Praziquantel (740 mg), sendo que após trinta dias, um novo exame coproparasitológico realizado como verificação de cura, foi negativo.

A investigação epidemiológica deste caso demonstrou que a possível fonte de infecção do paciente foi a ingestão de sashimi de salmão cru, em diferentes restaurantes de Ribeirão Preto. Apesar do paciente ter viajado nos últimos dez anos para outros municípios do Estado de São Paulo e do país, a ingestão de peixe cru ocorreu somente em Ribeirão Preto, sendo o caso classificado como autóctone.

A Vigilância Sanitária Municipal realizou intensa campanha educativa para informar os consumidores sobre o risco da ingestão de peixe cru e os restaurantes que servem este tipo de alimento, quanto ao apropriado congelamento dos peixes.

Recebido em 08/03/2006

Aprovado em 10/01/2007

¹Laboratório de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto; ²Divisão de Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto;

³Seção de Enteroparasitoses do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo



Figura 1 – Proglótides eliminadas espontaneamente pelo estudante residente em Ribeirão Preto, SP.

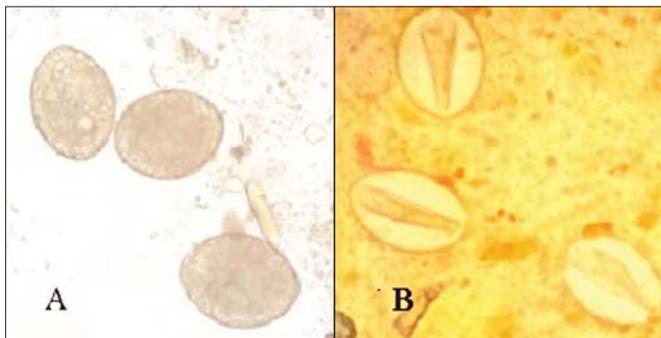


Figura 2 – Ovos de *Diphylobothrium* sp. encontrados no exame coproparasitológico de um estudante residente em Ribeirão Preto, SP, realizado pelos métodos da sedimentação espontânea (A) e de Kato (B).

DISCUSSÃO

O padrão epidemiológico das doenças transmitidas por alimentos tem sofrido mudanças devido a vários fatores como o crescimento do mercado internacional de alimentos, as melhorias do sistemas de transporte, a migração humana e as mudanças no hábitos alimentares¹. Além da repercussão na saúde pública, a difilobotríase humana têm impactos econômicos, devido à importação de peixes como o salmão. Portanto, a rápida identificação de portadores assintomáticos é útil para evitar a disseminação desta doença, pois os ovos eliminados juntamente com as fezes podem alcançar e contaminar as águas dos rios e lagos. O diagnóstico da infecção humana através do exame coproparasitológico é facilitado, pois geralmente o número de ovos eliminados por grama de fezes é elevado. Entretanto, a determinação da fonte de infecção é difícil, devido á necessidade de se coletar grandes quantidades de peixes das áreas suspeitas para análise microscópica. A identificação das espécies de *Diphylobothrium* é importante, pois *D. pacificum* infecta somente peixes de água salgada, ao passo que *D. latum* pode ser encontrado em peixes de água doce ou que pas-sam parte de sua vida na água salgada.

Para prevenir futuros casos da difilobotríase no Brasil são necessárias a implementação de várias medidas sanitárias, a identificação e tratamento dos indivíduos infectados e a realização de campanhas educativas junto à população.

REFERÊNCIAS

1. CHAI, J. K.; DARWIN MURRELL, K.; LYMBERY, A. J. Fish-borne parasitic zoonoses: status and issues. *Int. J. Parasitol.*, 35 (11-12): 1233-1254, 2005.
2. DICK, T. A.; NELSON, P. A.; CHOUDHURY, A. Diphyllobothriasis: update on human cases, foci, patterns and sources of human infections and future considerations. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 32, Suppl 2: 59-76, 2001.
3. DUPOUY-CAMET, J.; PEDUZZI, R. Current situation of human diphyllobothriasis in Europe. *Euro Surveill.*, 9 (4-6): 31-34, 2004.
4. EDUARDO, M.B.P.; SAMPAIO, J.L.M.; SUSUKI, E. et al. Investigação epidemiológica do surto de difilobotríase, São Paulo, maio de 2005. *BEPA*, 17: 1-17, 2005.
5. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Bag Bug Book – *Diphylobothrium* spp. Available: [http:// www.cfsan.fda.gov/~mow/chap26.htm](http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap26.htm). Accessed in: 11/12/2005.
6. LEE, K. W.; SUHK, H-C.; PAI, K-S. SHIN H-J et al. *Diphylobothrium latum* infection after eating domestic salmon flesh. *Korean J. Parasitol.*, 39 (4): 319-321, 2001.
7. REINHARD, K.; URBAN, O. Diagnosing ancient diphyllobothriasis from Chinchorro mummies. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 98, Suppl. I: 191-193, 2003.
8. ROHELA, M.; JAMAIAH, I.; CAHN, K. W.; YUSOFF, W. S. Diphyllobothriasis: the first case report from Malaysia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 33 (2): 229-230, 2002.
9. SAGUA, H.; NEIRA, I.; ARAYA, J.; GONZÁLEZ, J. Nuevos casos de infección humana por *Diphylobothrium pacificum* (Nybelin, 1931) Margolis, 1956 en Chile y su probable relación com el fenómeno de El Niño, 1975-2000. *Bol. Chil. Parasitol.*, 56 (1-2): 22-25, 2001.
10. SAMPAIO, J. L. M.; ANDRADE, V. P.; LUCAS, M. C.; FUNG, L. Diphyllobothriasis, Brazil. *Emerg. Infec. Dis.*, 11 (10): 1598-1600, 2005.
11. SANTOS, F. L. N.; FARO, L.B. The first confirmed case of *Diphylobothrium latum* in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 100 (6): 685-686, 2005.
12. SEMENAS, L.; KREITER, A.; URBANSKI, J. New cases of human diphyllobothriosis in Patagonia, Argentina. *Rev. Saúde públ. (S. Paulo)*, 35 (2): 214-216, 2001.
13. SEMENAS, L.; UBEDA, C. Difilobotriasis humana en la Patagonia, Argentina. *Rev. Saúde públ.*, 31 (3): 302-307, 1997.
14. TAVARES, L. E.; LUQUE, J. L.; BOMFIM, T. C. Human diphyllobothriasis: reports from Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 14 (2): 85-87, 2005.
15. TORRES, P.; FRANJOLA, R.; PÉREZ, J.; AUAD, S. et al. Epidemiología de la Difilobotriasis en la cuenca del Río Valdivia, Chile. *Rev. Saúde públ. (S. Paulo)*, 23 (1): 45-57, 1989.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Divani M. Capuano

Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto

Rua Minas, 877, Campos Elíseos

CEP. 14085-410 Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

Tel: (0XX) 16-36255046, Fax: (0XX) 16-36357994

E-mail: dcapuano@ial.sp.gov.br

Prevalência de *Staphylococcus aureus* em manipuladores de alimentos das creches municipais da cidade do Natal/RN*

Prevalence of *Staphylococcus aureus* in food handlers from grades schools located in Natal city, RN, Brazil

Caroline Addison Carvalho Xavier¹, Cátia França de Oliveira Oporto², Marli Pinheiro da Silva³, Iveraldo Amâncio da Silveira⁴ & Maíza Rocha de Abrantes⁴

RESUMO - Em muitos países o *Staphylococcus aureus* é considerado o segundo ou terceiro mais comum patógeno causador de intoxicação alimentar. Esta bactéria habita a pele, a orofaringe e, com frequência, a nasofaringe do ser humano, a partir da qual pode facilmente contaminar as mãos dos manipuladores de alimentos. O presente trabalho objetivou estimar a prevalência de portadores de *Staphylococcus aureus* em manipuladores de alimentos das creches municipais da cidade do Natal RN, no período de Maio a Agosto de 2002, seguido da análise socioeconômica da população estudada. Foram analisadas amostras de orofaringe e nasofaringe dos manipuladores de alimentos, num total de 65 amostras. O material foi coletado com swabs estéreis e os exames foram processados por métodos clássicos de culturas e provas bioquímicas (catalase, coagulase, DNase). As análises mostraram a existência de 23 portadores (35,4 %) da bactéria *Staphylococcus aureus*; foi verificado, também, que a população estudada apresentava baixas condições socioeconômicas. Estes resultados sugerem que os manipuladores de alimentos são importantes fontes de contaminação de *S. aureus*, sendo necessário adotar boas práticas de manipulação dos alimentos para prevenir contaminação e intoxicação alimentar.

PALAVRAS-CHAVE - *Staphylococcus aureus*, intoxicação alimentar, nasofaringe, manipuladores de alimentos.

SUMMARY - In several countries *Staphylococcus aureus* is considered the second or third most common pathogen causing of food poisoning. This bacteria lives in the human skin, oropharynges, and often nasal pharynges, where they can easily contaminate the hands of food handlers. The goal of this study is estimate the prevalence of *Staphylococcus aureus* in food handlers who were working in the elementary schools located in Natal city, RN, Brazil, from May to August, 2002, followed by social and economic analysis of the studied population. A total of 65 samples were assayed, including samples from oral pharynges and nasal pharynges of the food handlers. The samples were collected by using sterile swabs and assayed using cell culture classical methods and using catalase, coagulase and DNase biochemical assays. Results show the existence of 23 carries of *Staphylococcus aureus* (35.4 %) besides a low social economic status of the studied population, indicating that food handlers represent important source of *S. aureus* food contamination. The results presented here a should be account to create hygienic practices among food handlers in order to prevent *Staphylococcus aureus* food contamination and outbreaks of human illness associated with the consumption of *S. aureus* contaminated foods.

KEYWORDS - *Staphylococcus aureus*, food poisoning, nasal pharynges, food handlers.

INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus é um importante patógeno devido à sua virulência, resistência aos antimicrobianos e associação a várias doenças, incluindo enfermidades sistêmicas potencialmente fatais, infecções cutâneas, infecções oportunistas e intoxicação alimentar (LOWRY, 1998). Esta bactéria habita com frequência a nasofaringe do ser humano, a partir da qual pode facilmente contaminar as mãos do homem e penetrar no alimento, causando a intoxicação alimentar estafilocócica (MURRAY *et al.*, 2000). Em muitos países, o *Staphylococcus aureus* é considerado o segundo ou terceiro mais comum patógeno causador de intoxicação alimentar, perdendo em número apenas para *Salmonella sp.* e competindo com o *Clostridium perfringens* (BEAN *et al.*, 1996). Após a contaminação dos estafilococos no alimento, em temperatura ambiente ou mais elevada, ocorrerá a liberação de enterotoxinas que causam a intoxicação (CATTEAU, 1993). Os sorotipos A e D são os mais comumente associados com a intoxicação alimentar (DINGES; ORWIN; SCHLIEVERT, 2000). Estas enterotoxinas são resistentes às enzimas proteolíticas do trato intestinal humano e são proteínas termoestáveis (BALABAN; RASOOLY, 2000). O início da doença é rápido, com período de incubação mé-

dio de quatro à seis horas. A taxa de mortalidade de intoxicação alimentar estafilocócica é quase zero entre as pessoas saudáveis, mas pode ser significativa em indivíduos imunocomprometidos como os residentes de clínicas gástricas e crianças de pouca idade (ORDER *et al.*, 1992). Os principais sintomas da intoxicação alimentar estafilocócica inclui vômitos, seguidos de cólicas abdominais, diarreias aquosas e náuseas, podendo ocorrer sudorese e cefaléia, mas não se observa o aparecimento de febre (TRANTER *et al.*, 1990). O patógeno é encontrado em 30-80 % da população humana e um a dois terços destes possuem cepas enterotoxigênicas. Logo, o manuseio da comida sem higiene é considerado um risco de contaminação, e a intoxicação alimentar estafilocócica é comumente associada com manipuladores de alimentos (WIENEKE; ROBERTS; GILBERT, 1993).

Assim, baseado na sua importância e no desconhecimento de estudos de prevalência de portadores de *Staphylococcus aureus* em manipuladores de alimentos na cidade do Natal, RN, esse trabalho teve como objetivo inicial estimar a prevalência de portadores de *Staphylococcus aureus* em manipuladores de alimentos das creches municipais da cidade do Natal, no período de maio a agosto de 2002. O segundo objetivo desse estudo foi analisar o perfil socioeconômico da população estudada.

Recebido em 16/03/2006

Aprovado em 09/02/2007

*Disciplina de Microbiologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas (DACT), Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN.

¹Professora substituta do Departamento de Biofísica e Farmacologia da UFRN; ²Farmacêutica Bioquímica; ³Farmacêutica Bioquímica do Hospital Universitário Onofre Lopes; ⁴Professor do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da UFRN

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada com 65 manipuladores de alimentos no período de maio a agosto de 2002, após autorização dos diretores e dos manipuladores de alimentos das creches. As creches municipais avaliadas localizavam-se nos distritos sanitários norte, sul, leste e oeste, num total de 48 creches visitadas. A coleta dos dados, para análise do perfil socioeconômico da população estudada, foi realizado a partir de um questionário padronizado, onde foram verificados 5 itens, incluindo: faixa etária dos manipuladores, localização de residência, nível de escolaridade, número de cômodos nas residências e número de pessoas que moravam com os manipuladores. O questionário foi aplicado individualmente a cada manipulador de alimento antes da coleta do material biológico e após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

A coleta das amostras biológicas foi autorizada, também, mediante a assinatura de um termo de consentimento, coletou-se secreções de nasofaringe e orofaringe com o uso de swabs estéreis que foram acondicionados em meios de transporte especiais (Stuart, Micromed). Após a coleta, as amostras foram cultivadas a 37° C em meio de cultura ágar manitol salgado (Biobrás). Posteriormente, as colônias que se apresentavam como cocos gram positivos, agrupados em forma de cachos, foram submetidas às provas bioquímicas de identificação, prova da coagulase (SPERBER; TATINI, 1975), prova da catalase e prova da enzima DNase (KONEMAN *et al.*, 2001). Utilizou-se o programa de domínio público Epi Info 6.04 b para o processamento e análise dos dados. Foram produzidas análises de estimativas pontuais e intervalares dos parâmetros de interesse relativos à prevalência de indivíduos portadores de *S. aureus* e caracterização do nível socioeconômico da população estudada.

RESULTADOS

No período de maio a agosto de 2002 foram estudados 65 manipuladores de alimentos com o objetivo principal de avaliar a incidência de *Staphylococcus aureus* nas secreções de nasofaringe e orofaringe. A população estudada caracterizou-se por apresentar proporções concentradas (40 %) na faixa etária entre 37 a 46 anos (tabela I), todos os manipuladores de alimentos eram do sexo feminino, 49,3 % residiam no distrito sanitário norte da cidade de Natal-RN (tabela II) e a grande maioria tinha o nível de escolaridade fundamental (63,9 %) e 21,3 % eram não alfabetizados (tabela III). Nesta população, 61,3 % residiam em casas de seis ou mais cômodos (tabela IV) e 58,1 % moravam com 4 a 6 pessoas (tabela V).

A tabela VI mostra a prevalência de portadores de *S. aureus* entre os manipuladores de alimentos estudados. Observou-se uma prevalência de 35,4 %, 23 manipuladores de alimentos eram portadores desta bactéria, trata-se de um percentual com significado estatístico, por estar situado dentro do intervalo de confiança (23,9 - 48,2 %). Entre o total de indivíduos analisados, apenas 3,08 % relataram que estavam fazendo uso de antimicrobianos, 73,84 % não faziam uso de antimicrobianos e 23,08 % foram considerados ignorados, devido a falta desses dados (figura 1).

TABELA I

Distribuição por faixa etária dos manipuladores de alimentos das creches municipais da cidade do Natal – RN

Faixa etária	Frequência	Percentual
26 a 36	15	25
37 a 46	24	40
47 a 69	21	35
Total	60	100

Fonte: Laboratório de Microbiologia Clínica/ DACT/ UFRN.

TABELA II

Distribuição de localização de residência dos manipuladores de alimentos segundo distrito sanitário

Distrito sanitário	Frequência	Percentual
Norte	32	49,3
Sul	11	16,9
Leste	11	16,9
Oeste	11	16,9
Total	65	100,0

Fonte: Laboratório de Microbiologia Clínica/ DACT/ UFRN.

TABELA III

Distribuição dos manipuladores de alimentos segundo nível de escolaridade

Escolaridade	Frequência	Percentual
Não Alfabetizado	13	21,3
Fundamental	39	63,9
Médio	9	14,8
Total	61	100,0

Fonte: Laboratório de Microbiologia Clínica/ DACT/ UFRN.

TABELA IV

Número de cômodos nas residências dos manipuladores de alimentos

Números de Cômodos	Frequência	Percentual
2 a 5	24	38,7
6 ou Mais	38	61,3
Total	62	100

Fonte: Laboratório de Microbiologia Clínica/ DACT/ UFRN.

TABELA V

Número de pessoas que moram com os manipuladores de alimentos

Número de Pessoas	Frequência	Percentual
1 a 3	18	29
4 a 6	36	58,1
7 ou Mais	8	12,9

Fonte: Laboratório de Microbiologia Clínica/ DACT/ UFRN.

TABELA VI

Prevalência de *Staphylococcus aureus* em manipuladores de alimentos das creches municipais da cidade do Natal - RN

<i>Staphylococcus aureus</i>	Frequência	Percentual	Intervalo de Confiança
Presença	23	35,4	23,9 - 48,2
Ausência	42	64,6	51,8 - 76,1
Total	65	100,0	

Fonte: Laboratório de Microbiologia Clínica/ DACT/ UFRN

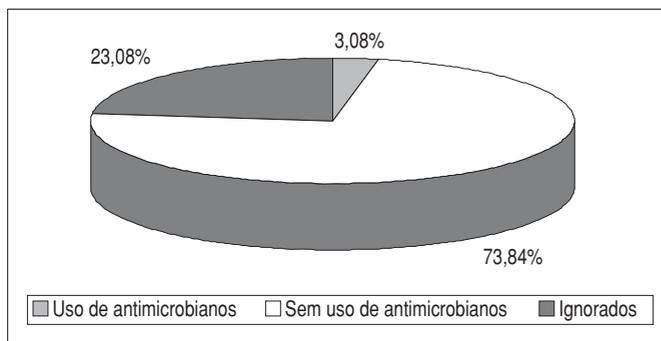


Figura 1: Prevalência do uso de antimicrobianos pelos manipuladores de alimentos

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

No presente estudo, foi investigada a prevalência de *S. aureus* em manipuladores de alimento das creches municipais da cidade do Natal-RN, bem como o perfil socioeconômico da população estudada. *S. aureus* é um dos agentes patogênicos mais comuns, responsável por surtos de intoxicação de origem alimentar. As peculiaridades do seu habitat tornam a sua presença largamente distribuída na natureza, sendo transmitido aos alimentos por manipuladores (CASTRO; IARIA, 1984). Sendo o agente responsável por aproximadamente 45 % das toxiinfecções no mundo, vários trabalhos referem os manipuladores como os maiores responsáveis pela transmissão (PASSOS; KUAYE, 1996. FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Nesse estudo foi demonstrado que dos 65 manipuladores de alimentos das creches municipais 23 eram portadores do *S. aureus* na nasofaringe e na orofaringe, ou seja, uma prevalência elevada (35,4 %). Resultados similares foram descritos por Pereira (1994), trabalhando com manipuladores de alimentos de cozinhas industriais; encontraram 30,9 % de portadores de *S. aureus*. Alimentos submetidos a intensa manipulação, apresentaram uma apreciável incidência deste microorganismo. Florentino *et al.* (1997), analisando 120 amostras de carne moída comercializada na cidade de João Pessoa-PB, encontrou 73,3 % de positividade para *S. aureus* nas amostras de feiras livres e 53,3 % nas coletadas em supermercados. No Japão, um trabalho realizado em Aichi-Ken, *S. aureus* foi isolado de alimentos, dos instrumentos de manipulação e do ser humano; o autor considerou os *Staphylococcus aureus* o principal agente etiológico de gastroenterites na região estudada (SUZUZI; SAITO; ISHIKAWA, 1999).

Considerando que a intoxicação alimentar abrange todas as classes sociais em todo o mundo (ARBUTHNOTT *et al.*, 1990), no presente estudo, a população analisada, caracterizou-se por apresentar baixas condições socioeconômicas, sendo necessário orientá-las sobre as boas práticas de manipulação de alimentos para prevenir intoxicação alimentar por *S. aureus*.

Segundo Murray *et al.* (2000), 15 % dos adultos saudáveis possuem *S. aureus* persistentemente na cavidade nasal. As cepas que estão presentes no nariz, podem passar para as mãos e pele, podendo vir a contaminar o ar, água, solo, alimentos e qualquer superfície ou objeto que tenha entrado em contato com o portador (GENIGEORGIS, 1989).

A manipulação inadequada dos alimentos por parte dos portadores da bactéria constitui a principal fonte de contaminação dos alimentos com estafilococos (LANCETTE, 1992). Fernandes *et al.* (1998) relataram um surto de intoxicação alimentar no município de Contagem, MG, onde a contaminação dos alimentos por *S. aureus* teve origem nos manipuladores, pois o material coletado da orofaringe e sub-ungueal dos treze cozinheiros, mostrou que 84,6 % das amostras tinham enterotoxinas do tipo A, B, C e D.

Para prevenir a intoxicação estafilocócica é importante, além de manter a saúde dos manipuladores, manter os alimentos sob refrigeração, pois, desta forma, impede-se a multiplicação bacteriana e consequentemente a produção de enterotoxinas, evitando os surtos de intoxicação (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Assim, os resultados do presente trabalho permitiram inferir que os alimentos que sofrem manipulação são potencialmente capazes de causar intoxicação estafilocócica e os manipuladores são importantes fontes de contaminação de *S. aureus*. É interessante que os resultados deste estudo possam criar ações com o objetivo de prevenir a contaminação e intoxicação alimentar. A implementação de cursos de educação básica em saúde e higiene dos alimentos, as boas práticas de fabricação e controle para os manipuladores tanto no domicílio quanto nos estabelecimentos coletivos são instrumentos significativos para prevenção dos surtos de intoxicação alimentar.

REFERÊNCIAS

- ARBUTHNOTT, J. P. et al. Staphylococcal toxins in human disease. J. of Appl. Bacteriol. Symposium Supplement, p. 101S-107, 1990.
- BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins. Int. J. Food Microbiol. V. 61, p.1-10, 2000.
- BEAN, N.H. et al. Surveillance for foodborne disease outbreaks. Morb. Mortal. W. Rep. V.45, p.1-66, 1996.
- CASTRO, M. M.; IARIA, S. T. Staphylococcus aureus enterotoxigênico no vestibulo nasal de manipuladores de alimentos em cozinhas de hospitais do município de João Pessoa PB. Revista de Saúde Pública. V. 18, p.235-245, 1984.
- CATTEAU, M. Infections microbiennes de origine alimentaire. Ann. Falsif. Expert. Chim. V.86, p.17-24, 1993.
- DINGES, M.M.; ORWIN, P.M.; SCHLIEVERT, P.M. Exotoxins of Staphylococcus aureus. Clin. Microbiol. Rev. V.13, p.16-34, 2000.
- FERNANDES, S. H. et al. Surtos de toxiinfecção alimentar - Estudo de Caso. In: V Congresso Latino Americano de Microbiologia e Higiene de Alimentos. Águas de Lindóia - SP. Anais do Congresso, p.72, 1998.
- FLORENTINO, E. R. et al. Avaliação da qualidade microbiológica da carne comercializada em Campina Grande PB. Higiene alimentar. V.11, n.47, p.38-41, 1997.
- FRANCO, B. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia de alimentos. Ed. Atheneu, São Paulo, 1996.
- GENIGEORGIS, C. A. Present state of knowledge on staphylococcal intoxication. J. of Food Microbiol., V.9, p.327-360, 1989.
- KONEMAN, E. W. et al. Diagnóstico Microbiológico - Texto e atlas colorido. 5ª edição, Editora Médica e Científica, Rio de Janeiro, p.1465, 2001.
- LANCETTE, G. A.; TATINI, S. R. Staphylococcus aureus. Compendium of methods for Microbiological Examination of Foods. American Public Health association, Washington, 1992.
- LOWY, F.D. Staphylococcus aureus infections. New England Journal of Me-

dicine. V.339, p.520-532, 1998.

14. MURRAY, K. et al. Use of ground beef model to assess the effect of the lactoperoxidase system on the growth of Escherichia coli O 157: H7, Listeria monocytogenes and Staphylococcus aureus in red meat. International Journal of Food Microbiology. V. 57, p.147-158, 2000.
15. ORDEN, J. A. et al. Applicability of an immunoblot technique combined with a semi-automated electrophoresis systems for detect of Staphylococcal enterotoxins in food extrats. Applied and Environmental Microbiology, v.58, p.4083-4085, 1992.
16. PASSOS, M. H. C. R.; HUAYE, A. Y. Avaliação dos surtos de enfermidades transmitidas por alimentos comprovados laboratorialmente no município de Campinas SP no período de 1987 a 1993. Revista do Instituto Adolfo Lutz. V. 56, n.1, p.77-82, 1996.
17. PERREIRA, M. L. et al. Enterotoxigenic Staphylococci from food handlers working in an industrial kitchen in Belo Horizonte MG. Revista de Microbiologia. V.25, n.3, p.161-165, 1994.
18. SPERBER, W. H.; TATINI, S. R. Interpretation of the tube coagulase test for identification of Staphylococcus aureus. Applied Microbiology. V.29, n.4,

p.502-505, 1975.

19. SUZUKI, Y.; SAITO, M.; ISHIKAWA, N. Restriction fragment length polymorphisms analysis by pulsed-field gel electrophoresis for discrimination of Staphylococcus aureus isolates from food borne outbreaks. International Journal of Food Microbiology. V.46, p271-274, 1999.
20. TRANTER, H. S. Foodborne staphylococcal illness. Lancet. V.336, p.1044-1046, 1990.
21. WIENEKE, A. A. ; ROBERTS, D.; GILBERT, R. J. Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom. Epidemiol. Infect. V.110, p.519-531, 1993.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Professora Ms Caroline Addison Carvalho Xavier
Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Depto de Biofísica e Farmacologia, Disciplina de Farmacologia
Av. Senador Salgado Filho SN, Centro de Biociências, Campus Universitário
CEP: 59072-970 Natal/RN
E-mail:carolineaddisonfarma@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

Viroses respiratórias emergentes: os vírus e seu diagnóstico

Viroses respiratory emergent: the viruses and its diagnosis

Luciane Teresinha Lovato¹, Mário Celso Sperotto Brum² & Sydney Hartz Alves¹

RESUMO - A emergência e re-emergência de vírus patogênicos são assuntos atuais e de grande interesse para profissionais da área da saúde. As alterações do meio ambiente causada pelo progresso humano, tem possibilitado a introdução de novos agentes virais e o reaparecimento de novas amostras de vírus já conhecido entre os humanos. Por outro lado, o avanço tecnológico tem contribuído para o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico e tratamento cada vez mais rápidas, precisas e eficientes. O vírus da Influenza, agente etiológico da gripe, é um velho conhecido que periodicamente adquire nova roupagem e traz consigo o risco de uma pandemia. O metapneumovírus humano (hMPV) é um vírus recentemente identificado que parece ter papel importante na produção de doenças respiratórias em crianças. Esta revisão aborda aspectos gerais e importantes destes vírus, que podem ser considerados exemplos de agentes re-emergentes e emergentes para a população humana. Serão apresentadas características do agente etiológico, epidemiologia e formas de diagnóstico.

PALAVRAS-CHAVE - viroses emergentes, influenza, metapneumovírus, diagnóstico viral.

SUMMARY - Nowadays the emergence and the re-emergence of pathogenic viruses is a very important issue for health workers. The changes in the environment caused by the human progress has given the opportunity to new viruses or new variants of well known human virus to infect and produce disease in humans. Even though, the technologic and scientific development has produced new assays and techniques to diagnosis and treat these infections very fast and precisely. The Influenza virus is an old known microorganism that acquired a new fashion bringing with it the risk of a pandemic. The human metapneumovirus was recently identified and it looks like to have an important role in child respiratory diseases. This brief review will address general aspects of the viruses, which can be considered example of the emergence and re-emergence viruses for the human population. We will present general aspects of the agent, epidemiology and diagnostic tools currently available.

KEYWORDS - emergent viruses, influenza, metapneumovirus, viral diagnosis.

INTRODUÇÃO

As doenças respiratórias agudas de etiologia infecciosa estão entre as seis principais causas de morte em todo o mundo (29). Os vírus das famílias Paramyxoviridae, Orthomyxoviridae, Picornaviridae, Adenoviridae e Coronaviridae contribuem regularmente para esta estatística (36, 8). Recentemente foram identificados novos patógenos virais respiratórios, bem como constatado que antigos patógenos apresentando modificações tornaram-se mais virulentos. As razões para a emergência e re-emergência de patógenos são variadas, e incluem desde alterações ambientais até mutações do agente (37). Essas modificações possibilitam que um agente encontre um novo hospedeiro, no caso os humanos, e se dissemine entre a população. A pressão exercida por populações nas regiões de transição entre florestas e cidades, que muitas vezes são determinadas pela expansão das fronteiras agrícolas e a busca de alimentos, tem possibilitado o contato de novos agentes virais com a população humana (37). A realidade de uma sociedade globalizada, onde o movimento de pessoas é bastante intenso, torna-se um ponto chave na disseminação de doenças. A associação da alta plasticidade de alguns vírus, fazendo com que facilmente apresentem mutações, com a possibilidade de disseminação rápida entre as populações produzem preocupações e mantém em estado de alerta os profissionais de saúde envolvidos (37). A vigilância e o monitoramento constante de alterações das frequências da apresentação de doenças tornou-se um ponto chave para a rápida detecção de novos variantes. Essas ações possuem maior importância nas áreas onde existe uma maior proximidade entre populações humanas e grande diversidade de fauna (29, 12, 37).

O objetivo deste artigo é revisar aspectos gerais de dois agentes virais de doenças respiratórias emergentes. Serão apresentados e discutidos vírus da Influenza H5N1 e o metapneumovírus humano, dando-se ênfase à epidemiologia e ao diagnóstico.

INFLUENZA

O microrganismo

O vírus da Influenza é o agente etiológico de uma das doenças respiratórias mais comumente diagnosticada entre humanos, a gripe. Existem três sorotipos do vírus denominados Influenza A, B e C. Os vírus Influenza A são patógenos de humanos, suínos, aves, cavalos, martas, baleias e focas, os vírus Influenza B causam doenças apenas em humanos, enquanto os vírus Influenza C infectam humanos e suínos, mas dificilmente causam doença grave (22). Os sorotipos são classificados em vários subtipos e os vírus pertencentes ao sorotipo A são os que geralmente causam infecções respiratórias em humanos e estão envolvidos na ocorrência de pandemias após o aparecimento de novas cepas mais patogênicas para o homem (27, 35).

Os vírus Influenza possuem aspecto pleomórfico com partículas de diâmetro de 80-120nm envolvidas por um envelope lipídico apresentando grandes projeções na superfície (22, 36). Estas projeções do envelope são as glicoproteínas virais conhecidas como hemaglutinina (HA), responsável pela ligação do vírus ao receptor celular, e a neuraminidase (NA) que têm função importante na liberação das partículas virais após a replicação (22, 36, 5).

As proteínas de superfície HA e NA são os principais determinantes antigênicos do vírus sendo que a maior parte dos anticorpos neutralizantes produzidos contra o vírus são dire-

Recebido em 29/05/2006

Aprovado em 27/02/2007

¹Prof. Adjunta. Departamento de Microbiologia e Parasitologia; Centro de Ciências da Saúde; Universidade Federal de Santa Maria; Santa Maria, RS, Brasil.

²Programa de Pós graduação em Medicina Veterinária (doutorado); Centro de Ciências Rurais; Universidade Federal de Santa Maria; Santa Maria, RS, Brasil.

³Prof. Adjunto. Departamento de Microbiologia e Parasitologia; CCS; Universidade federal de Santa Maria; Santa Maria, RS, Brasil.

cionados contra elas (5). A classificação dos vírus Influenza A em subtipos é realizada com base nas diferenças antigênicas detectadas nestas glicoproteínas. Até agora, já foram classificados 16 tipos de HA (8) e 9 tipos de NA e a denominação de uma amostra viral é dada pela associação dos tipos de HA e NA como, por exemplo, o vírus que possui HA3 e NA8 é comumente conhecido como H3N8 (22, 36, 5, 8, 27). O genoma do vírus Influenza A consiste de oito segmentos de RNA de cadeia simples que codificam para 10 proteínas. A estrutura segmentada do genoma facilita a troca de segmentos de ácido nucléico em células infectadas por duas amostras diferentes do vírus Influenza A através de um processo conhecido como "ressortimento". Esta troca de segmentos entre vírus é tecnicamente denominado "antigenic shift" e é apontada como uma das causas principais da emergência de amostras com significativo potencial patogênico para o homem (22, 36, 5, 27).

O surgimento de novas variantes também é facilitado pelo "antigenic drift" que consiste em mutações pontuais no genoma do vírus. Estas mutações podem ocorrer através de substituição, inserções ou deleções de nucleotídeos (22, 36). Os processos de "antigenic shift" e "antigenic drift" podem ocorrer em qualquer segmento do genoma do vírus, todavia, assumem maior importância para a epidemiologia da doença se ocorrerem nos genes que codificam para hemaglutinina e/ou neuraminidase (22, 36).

As mutações pontuais que ocorrem nos genes destas duas proteínas (HA e NA) determinam ou não o reconhecimento ou reconhecimento parcial da nova variante pelo sistema imune do hospedeiro, mesmo que contatos anteriores já tenham ocorrido (22, 36). Esta é a razão pela qual a imunidade contra o vírus Influenza não é duradoura gerando vários episódios da doença ao longo da vida dos indivíduos. As aves aquáticas são consideradas o reservatório de todos os vírus Influenza porque todas as variantes de HA e NA foram encontrados nestes animais. Ocasionalmente, o vírus é transmitido para aves domésticas e mamíferos. Apesar da existência desta variedade de HA e NA, o número de subtipos circulantes e determinantes de doença nas diferentes espécies é relativamente restrito (5, 22, 27). Assim, os subtipos H1, H2 e H3, e N1 e N2 têm circulado na população humana desde 1918, enquanto H1, H3, N1 e N2 circulam entre suínos e H7N7 e H3N8 são encontrados nos equinos (5). Os vírus com significativo potencial patogênico circulantes nas aves e capazes de causar doença severa, pertencem aos subtipos H5 e H7.

As Epidemias

Eventos de transmissão entre as espécies já foram documentados de suínos para humanos, humanos para suínos, equinos para cães e, mais recentemente, de aves para humanos e felinos (27). A cepa altamente virulenta de vírus Influenza A H5N1 de aves, atualmente circulante na Ásia e Europa, está sendo considerada de alto risco para o desenvolvimento de uma pandemia de gripe humana pela comunidade científica, bem como profissionais da área da saúde. No século passado, ocorreram três pandemias de gripe humana e, aparentemente, todas originárias de vírus de aves (5, 27, 30, 31).

A Influenza Asiática pandêmica de 1957 e a Influenza pandêmica de Hong Kong de 1968 foram, comprovadamente, causadas por vírus que passaram por "ressortimento". No primeiro caso, o vírus causador foi o H2N2. Esse vírus foi o resultado do reassortimento entre o vírus H1N1 circulante em humanos com o vírus H2N2 presente em aves. O novo H2N2 adquiriu os segmentos H2, N2 e PB1 do vírus circu-

lante em aves e tornou-se patogênico para humanos. No caso de Hong Kong em 1968 o vírus humano H2N2 incorporou os genes H3 e PB1 de vírus de aves e originou o H3N2. As gripes pandêmicas de 1957 e 1968 geraram entre 1-4 milhões de óbitos cada uma delas (2). Contudo, a pandemia de gripe mais devastadora ocorreu em 1918-1919; conhecida como Gripe Espanhola e levou a óbito, aproximadamente, 50 milhões de pessoas em todo o mundo (31).

A análise genética de isolados do vírus causador da Gripe Espanhola indicou que a emergência do mesmo não teria origem no "ressortimento", uma vez que todos os segmentos do vírus eram diferentes das cepas circulantes entre humanos na época (30, 31). Por outro lado, o sequenciamento do genoma demonstrou que o vírus da Gripe Espanhola originou-se inteiramente dos vírus de aves, fundamentando a hipótese da transmissão direta de aves para humanos ou que tenha ocorrido a transmissão para outra espécie de mamífero, como o suíno, e depois para homem (30). O vírus de 1918 apresenta um pequeno número de mutações nos genes da polimerase viral que são encontrados em outros vírus de origem humana, mas que não ocorrem em vírus de aves. Estas mutações podem ser importantes para a adaptação dos vírus avícolas em humanos. Algumas destas alterações foram encontradas no vírus H5N1 causador dos recentes surtos de Influenza altamente patogênica para aves e transmissível à espécie humana (30).

O temor causado pelo H5N1

O primeiro surto de Influenza com o vírus H5N1 envolvendo aves e o homem ocorreu em 1997 em Hong Kong (8, 12, 35), quando 18 indivíduos foram infectados pelo vírus dos quais seis foram a óbito (35). Posteriormente, ficou comprovado que este vírus surgiu através de "ressortimento" originando-se de um vírus de gansos em 1996 na província de Guandong na China. O vírus foi erradicado de Hong Kong através da destruição de todas as aves domésticas (35).

Apesar dos esforços de erradicação, este vírus de gansos continuou a circular e amostras similares emergiram em 2001-2002 causando surtos da doença em aves domésticas (5, 8, 35). No final de 2002, uma cepa altamente virulenta para aves silvestres causou grande mortalidade em parques de Hong Kong. Os vírus circulantes entre aves, normalmente, não são patogênicos para aves silvestres. Um vírus, genética e antigênicamente semelhante, infectou duas pessoas levando a um óbito.

Estudos moleculares do vírus H5N1 foram realizados no período de 2000-2004 em isolados a partir de humanos e de aves nos países asiáticos afetados. Esta análise demonstrou que uma série de "ressortimentos" envolvendo o vírus inicialmente detectado em gansos deu origem a um genótipo de H5N1 dominante (genótipo Z) entre galinhas e perus. Desde então, vírus com este genótipo são os causadores dos surtos de Influenza entre aves e humanos (5).

A evolução do vírus H5N1, ao longo do tempo, potencializou sua virulência e sua expansão entre hospedeiros suscetíveis. Além do aumento da virulência para espécies silvestres (5, 8, 35), também foi observado aumento da letalidade em camundongos e furões infectados, experimentalmente, no período de 1999-2000 (8). O vírus tornou-se infeccioso para mamíferos, causando mortes e sendo transmitido entre felinos selvagens como tigres e leopardos e também entre gatos domésticos (15, 16). A transmissão do vírus de marrecos para suínos tem sido considerada uma possível explicação para o aumento na habilidade do vírus replicar em mamíferos (5).

Até dezembro de 2005, o vírus Influenza H5N1 havia infectado mais de 130 pessoas das quais, 70 evoluíram ao óbito (35). De acordo com o último relato da Organização Mundial de Saúde (OMS-WHO), de 10 de março de 2006; já foram infectadas 176 pessoas e ocorreram 97 óbitos com comprovação laboratorial (2). Os dados de morbidade em humanos devem ser analisados com cuidado, pois existe um questionamento sobre as informações fornecidas por alguns países asiáticos.

Os pré-requisitos para que um vírus Influenza possa causar uma pandemia entre humanos são: a) que o vírus represente um novo subtipo desconhecido do sistema imune humano; b) deva replicar e causar doença; c) seja eficientemente transmitido entre humanos (2). Até o momento o vírus H5N1 preencheu bem os dois primeiros requisitos, mas não foi constatada a transmissão entre humanos. Alguns cientistas acreditam que a replicação continuada em aves e outras espécies, ao longo da epidemia, poderá facilitar a emergência de um vírus adaptado ao homem e assim eficientemente, transmitido entre humanos. A grande incógnita é se isto realmente ocorrerá e quando. Os profissionais e autoridades da saúde no mundo inteiro estão alertados para esta possibilidade e vigilância e planos de ação, em caso de crise, estão sendo discutidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS-WHO).

O diagnóstico

O diagnóstico da infecção pelo vírus Influenza pode ser realizado através de várias técnicas laboratoriais como isolamento viral, detecção do antígeno ou ácido nucléico e sorologia (22, 36, 5). Devido ao grande potencial de contágio entre as aves e o risco que o H5N1 representa para o homem, é recomendado que o diagnóstico seja realizado em laboratórios de referência. No Brasil, as amostras devem ser enviadas para o laboratório oficial LARA (Laboratórios Regionais de Apoio Animal) em Campinas.

O isolamento dos vírus Influenza é realizado, tradicionalmente, em ovos embrionados com posterior identificação através da técnica de inibição da hemaglutinação (22, 36). Atualmente, o isolamento em cultivos celulares também é possível e, para isto, são utilizadas células de rim de canino (MDCK) na presença de tripsina. As cepas altamente patogênicas dos vírus de aves, como é o caso do H5N1, replicam, eficientemente, em cultivos sem a presença de tripsina (5).

A detecção de anticorpos também pode ser utilizada e, no caso do vírus Influenza, isto é realizado pela técnica de inibição da hemaglutinação. Entretanto, foi observada melhor eficiência da técnica de microneutralização para a detecção de anticorpos contra o vírus de aves (H5N1) em humanos. Através desta técnica, ficou demonstrado que os anticorpos neutralizantes podem ser detectados aos 14 dias e atingem títulos de 1: 640 vinte dias após a infecção (5). Embora o isolamento viral seja o padrão ouro do diagnóstico e importante na identificação do vírus, este é um processo demorado. O mesmo caso se dá com as provas sorológicas, uma vez que anticorpos são detectados somente após vários dias do início da infecção. Por estas razões, em situações de surto, quando se faz necessário o diagnóstico precoce e preciso, as técnicas moleculares são mais utilizadas. A detecção do ácido nucléico viral através da RT-PCR (transcrição reversa e reação de polimerase em cadeia) têm sido a principal opção de muitos laboratórios para o rápido diagnóstico dos surtos de influenza aviária na Ásia e Europa (38, 23, 25). A utilização de PCR em tempo real pode acelerar e refinar muito o diagnóstico, sendo possível a identificação da amostra e sua subtipificação em questão

de horas (5). O Centro para o Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos desenvolveu um kit com "primers" e sonda para a realização de PCR em tempo real especificamente para a cepa viral associada com casos de doença humana na Ásia (39).

METAPNEUMOVIRUS HUMANO (hMPV)

O vírus e a epidemiologia

O hMPV foi identificado pela primeira vez, em 2001, na Holanda, em 28 amostras coletadas, ao longo de 20 anos, de crianças com doença respiratória, a partir das quais, nenhum patógeno conhecido havia sido detectado (33). O novo vírus apresenta genoma RNA de sentido negativo, partículas envelopadas com um diâmetro aproximado de 200nm, e morfologia típica da família Paramyxoviridae (33, 1, 20).

Na família Paramyxoviridae está classificado também o vírus Sincicial Respiratório humano (hRSV) um dos principais causadores de doenças respiratórias em crianças (33, 19) e o metapneumovírus aviário (APV) que acomete galinhas e perus (22). O seqüenciamento do genoma revelou maior homologia entre o novo vírus identificado (hMPV) com o metapneumovírus aviário do que com outros vírus humanos da mesma família, entre eles o hSRV (33). Além de uma identidade de amino-ácidos variando entre 56% e 88%, foi observada também grande similaridade na organização gênica entre estes dois vírus (APV: 3' - N - P - M - F - M2 - SH - G - L 5' e hMPV: 3' - N - P - M - F - M2 - SH - G - L - 5') (33). A análise filogenética de vários isolados do hMPV demonstrou que existem dois sorotipos do vírus denominado A e B e, provavelmente, dois subtipos em cada um dos sorotipos (34).

Após a primeira descrição, o hMPV foi detectado em pacientes com problemas respiratórios em vários países (24, 3, 28, 6, 34). A doença respiratória causada pelo hMPV é bastante similar à doença causada pelo hRSV (14). O vírus parece induzir desde infecções inaparentes até quadros severos de pneumonia com alguns pacientes requerendo ventilação mecânica (34). Entre a população inicialmente estudada na identificação do hMPV, foram observados diferentes quadros clínicos, incluindo problemas respiratórios leves, tosse severa, bronquiolite e pneumonia (33). Respiração ofegante, febre e rinite são os sintomas, freqüentemente, descritos na maioria dos casos (13, 3).

A epidemiologia da doença causada pelo novo hMPV ainda não está totalmente esclarecida, mas alguns aspectos têm sido regularmente observados. Amostras de soro coletadas em 1958 foram positivas para a presença de anticorpos contra o vírus, indicando que o mesmo já circula na população humana há muito tempo (33). A infecção pelo hMPV, aparentemente, ocorre de forma sazonal, na estação mais fria do ano, similarmente aos vírus da Influenza e o hRSV (34). Esta observação é baseada no fato de que os dados obtidos até o momento são provenientes de amostras coletadas de pacientes durante o inverno na Europa, América do Norte e Austrália. Em Hong Kong, o pico da atividade do vírus foi na primavera e início do verão, no mesmo período em que o hRSV ocorre nesta região (20). No Brasil, a presença do vírus foi diagnosticada no Estado do Sergipe, região nordeste do país, caracterizada pelo clima tropical durante todo o ano (4). Porém, estudos distribuídos ao longo do ano ainda não foram realizados para esclarecer a época de maior transmissibilidade do vírus (20).

As crianças com idade inferior a dois anos, os idosos e os indivíduos imunocomprometidos são os pacientes que comumente desenvolvem a forma clínica da infecção (34, 20

14, 1). Os pacientes com maior pré-disposição para o desenvolvimento de um quadro clínico severo são crianças prematuras e recém-nascidos com patologias de base como doença cardíaca congênita e câncer (14).

Inquéritos sorológicos realizados em crianças de diversas faixas etárias, demonstrou que aos cinco anos quase a totalidade dos indivíduos já havia sido exposta ao vírus (33, 34). A taxa de soropositivos em crianças menores de cinco anos e com sinais clínicos de doença respiratória variou entre 5% a 7% (34), atingindo até 10% em alguns estudos (14). Na população geral, com manifestações clínicas de enfermidade respiratória, esta taxa baixou para aproximadamente 3% (34).

No Brasil, a presença do vírus foi detectada em crianças com doenças respiratórias atendidas em hospitais e clínicas da cidade de Aracaju, Sergipe (4). Os autores coletaram 111 amostras, das quais 53 (48%) foram positivas apenas para hRSV, 19 (17%) positivas apenas para o hMPV e 8 (7%) positivas para ambos os vírus. A presença do hMPV foi também demonstrada através de sorologia no Uruguai (21). Neste caso, foram utilizadas amostras coletadas entre 1998 e 2001 de indivíduos com idade entre seis dias e sessenta anos, com ou sem manifestações de doença respiratória. Nesta pesquisa 80% das amostras resultaram positivas (21). A hipótese da ocorrência de co-infecções com o hMPV e outros patógenos respiratórios foi sugerida pela aparente sazonalidade do vírus, coincidente com o período de atividade de outros vírus humanos como Influenza e Sincicial respiratório (20, 34). Na Inglaterra, Greensill *et al* (2003) relataram elevada frequência de co-infecção do hMPV em crianças com quadro severo de bronquiolite causada pelo hRSV. Os dois agentes virais foram detectados por RT-PCR em 70% das amostras testadas, sugerindo um aumento na severidade da doença com a dupla infecção (10). No Estado do Sergipe, Cuevas *et al* (2003) demonstraram co-infecção por estes dois vírus em 7% das crianças com doença respiratória no Estado do Sergipe.

Por outro lado, em estudos realizados na Espanha, em crianças com idade inferior a 3 anos, o hMPV foi detectado em 4,1% das amostras e não houve detecção de co-infecção (32). O hMPV foi também isolado de alguns pacientes com Pneumonia Asiática logo que esta doença surgiu, mas com a identificação do novo coronavírus humano como agente da doença, nenhum papel ficou comprovado para o hMPV neste caso (20, 34). Devido aos resultados controversos e à pequena quantidade de dados existentes, a importância destas co-infecções ainda está sendo discutida entre a comunidade científica internacional.

O diagnóstico

A quantidade de informações disponíveis sobre o hMPV ainda é pequena, principalmente com relação à epidemiologia, patogenia e sinais clínicos pelo fato do vírus ter sido descoberto recentemente, mas também pelas dificuldades na realização do diagnóstico desta doença viral. O vírus foi inicialmente isolado em células terciárias de rim de macacos onde o hMPV replica lentamente. A adição de tripsina ao meio do cultivo celular foi imprescindível uma vez que o vírus não replicou na ausência desta (33).

O vírus evidencia replicação pouco eficiente em células comumente utilizadas nos laboratórios de diagnóstico e pesquisa como células Vero e A549 e não replica em fibroblastos de embrião de galinha ou MDCK (*Madin-Darbe canine kidney*). A baixa susceptibilidade dos cultivos celulares,

juntamente com a necessidade da presença de tripsina no meio, talvez possa explicar o fato de o vírus estar circulando na população humana há tanto tempo e ter sido detectado somente agora (14). A replicação do hMPV em cultivo celular é lento e o efeito citopático somente é observado após 10-14 dias e indistinguível do efeito do hRSV (34).

As dificuldades de cultivo e o tempo necessário para a realização do isolamento tornam esta técnica pouco viável para a sua aplicação na rotina. A RT-PCR (transcrição reversa e reação de polimerase em cadeia) realizada de forma convencional ou a RT-PCR em tempo real (*real time PCR*) são as técnicas que têm apresentado os melhores resultados para a detecção do hMPV. Devido a sua rapidez e segurança na detecção do vírus, são amplamente utilizadas na realização do diagnóstico e pesquisas sobre este vírus (34, 19).

Iniciadores ou "primers" direcionados para as regiões conservadas que codificam a polimerase (L) e a proteína de fusão (F) foram capazes de detectar vírus de ambos os sorotipos através da RT-PCR convencional. Através da técnica de RT-PCR em tempo real, a detecção do gene da nucleoproteína (N) e da polimerase (L) apresentaram bons resultados na RT-PCR em tempo real (34).

A comprovação da presença viral pode ser realizada através da técnica de imunofluorescência (IF) diretamente nas amostras clínicas e após inoculação destas em cultivo celular. Esta técnica é comumente utilizada para o diagnóstico dos vírus respiratórios e, portanto, deve ser considerada como uma opção para o rápido diagnóstico do hMPV (6, 17, 26). Anticorpos monoclonais desenvolvidos por diferentes grupos têm demonstrado boa aplicabilidade prática.

O anticorpo monoclonal MAb-8, que está disponível comercialmente, apresentou bons resultados na detecção de células inoculadas com hMPV 1 a 2 dias após a inoculação, porém, não reproduziu resultados animadores quando testado diretamente em amostras clínicas (17). Testes comparativos realizados no Japão demonstraram que este anticorpo utilizado na técnica de imunofluorescência detectou 11 das 15 amostras positivas através da RT-PCR (6). Bons resultados foram obtidos também com outro anticorpo monoclonal produzido por um grupo italiano que demonstrou sensibilidade de 73,9% e especificidade de 94,4% na imunofluorescência quando comparada com a RT-PCR (26).

A técnica de imunofluorescência indireta e o ensaio imunoenzimático (ELISA), utilizando células infectadas como antígeno, têm sido amplamente utilizadas em estudos sorológicos. Alguns testes de ELISA, utilizando como antígenos proteínas recombinantes, também foram desenvolvidos. Os resultados mais animadores foram obtidos com as proteínas M (matriz) e N (nucleoproteína) (18, 11).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Doenças infecciosas continuarão a emergir e re-emergir, apresentando novos riscos à saúde animal e humana. Os cientistas chamam a atenção para o papel do homem nestes eventos, através da sua ação sobre o meio ambiente (29, 16). Por outro lado, o avanço no desenvolvimento de técnicas de diagnóstico, vigilância, produção de vacinas e medicamentos é a resposta da ciência a estes novos desafios. Assim, espera-se dos profissionais da saúde e autoridades responsáveis pela saúde pública que continuem seus esforços no sentido de prevenir e evitar grandes epidemias, preservando vidas.

REFERÊNCIAS

- Alto, W. A. Human metapneumovirus: a newly described respiratory tract pathogen. *J Am. Board. Fam. Pract.*, 17 (6): 466-469, 2004.
- Beigel, J.H.; Farrar, J.; Han, A.M.; Hayden, F.G.; Hyer, R.; de Jong, M.D.; Lo-chindarat, S.; Tien, N.T.K.; Hien, N.T.; Hien, T.T.; Nicoll, A.; Touch, S.; Yuen, K. Y. Avian influenza A (H5N1) infection in humans. The writing committee of the world health organization (WHO) consultation on human influenza A/H5. *N. Engl. J. Med.*, 353: 1374-1385, 2006.
- Boivin, G.; Abed, Y.; Pelletier, G.; Ruel, L.; Moisan, D.; Cote, S.; Peret, T.C.; Erdman, D.D.; Anderson, L.J. Virological features and clinical manifestations associated with human metapneumovirus: a new paramyxovirus responsible for acute respiratory-tract infections in all age groups. *J. Infect. Dis.*, 186(9): 1330-1334, 2002.
- Cuevas, L.E.; Nasser, A.M.; Dove, W.; Gurgel, R.Q.; Greensill, J.; Hart, C.A. Human metapneumovirus and respiratory syncytial virus, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.*, 9 (12): 1626-1628, 2003.
- Jong, M.D.; Hien, T.T. Avian influenza A (H5N1). *J Clin Virol.*, 35(1): 2-13, 2006.
- Ebihara T, Endo R, Ma X, Ishiguro N, Kikuta H. Detection of human metapneumovirus antigens in nasopharyngeal secretions by an immunofluorescent-antibody test. *J Clin Microbiol.*, 43 (3), 1138-1141, 2005.
- Fouchier, R. A.; Munster, V.; Wallensten, A.; Bestebroer, T.M.; Herfst, S.; Smith, D.; Rimmelzwaan, G.F.; Olsen, B.; Osterhaus, A.D. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J.Virol.*, 79 (5): 2814-2822, 2005.
- Fouchier, R.A.; Rimmelzwaan, G.F.; Kuiken, T.; Osterhaus, A.D. Newer respiratory virus infections: human metapneumovirus, avian influenza virus, and human coronaviruses. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 18 (2): 141-146, 2005.
- Govorkova, E.A.; Rehg, J.E.; Krauss, S.; Yen, H.L.; Guan, Y.; Peiris, M.; Nguyen, T.D.; Hanh, T.H.; Puthavathana, P.; Long, H.T.; Buranathai, C.; Lim, W.; Webster, R.G.; Hoffmann, E. Lethality to ferrets of H5N1 influenza viruses isolated from humans and poultry in 2004. *J. Virol.*, 79 (4): 2191-2198, 2005.
- Greensill, J.; McNamara, P.S.; Dove, W.; Flanagan, B.; Smyth, R.L.; Hart, C.A. Human metapneumovirus in severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Emerg. Infect. Dis.*, 9 (3): 372-375, 2003.
- Hamelin, M.E.; Boivin, G. Development and validation of an enzyme-linked immunosorbent assay for human metapneumovirus serology based on a recombinant viral protein. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 12 (2): 249-253, 2005.
- Hayden, F.G. Respiratory viral threats. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 19 (2): 169-178, 2006.
- Jartti, T.; van den Hoogen, B.; Garofalo, R.P.; Osterhaus, A.D.; Ruuskanen, O. Metapneumovirus and acute wheezing in children. *Lancet*, 360(9343): 1393-1394, 2002.
- Kahn, J.S. Human metapneumovirus: a newly emerging respiratory pathogen. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 16 (3): 255-258, 2003.
- Keawcharoen, J.; Oraveerakul, K.; Kuiken, T.; Fouchier, R.A.; Amonsin, A.; Payungporn, S.; Noppornpanth, S.; Wattanodorn, S.; Theambooniers, A.; Tantilertcharoen, R.; Pattanarangsarn, R.; Arya, N.; Ratanakorn, P.; Osterhaus, D.M.; Poovorawan, Y. Avian influenza H5N1 in tigers and leopards. *Emerg. Infect. Dis.*, 10 (12): 2189-2191, 2004.
- Kuiken, T.; Fouchier, R.; Rimmelzwaan, G.; Osterhaus, A. Emerging viral infections in a rapidly changing world. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 14 (6): 641-646, 2003.
- Landry, M.L.; Ferguson, D.; Cohen, S.; Peret, T.C.; Erdman, D.D. Detection of human metapneumovirus in clinical samples by immunofluorescence staining of shell vial centrifugation cultures prepared from three different cell lines. *J. Clin. Microbiol.*, 43 (4):1950-1952, 2005.
- Leung, J.; Esper, F.; Weibel, C.; Kahn, J.S. Seroepidemiology of human metapneumovirus (hMPV) on the basis of a novel enzyme-linked immunosorbent assay utilizing hMPV fusion protein expressed in recombinant vesicular stomatitis virus. *J. Clin. Microbiol.*, 43(3): 1213-1219, 2005.
- Mackay, I.M.; Jacob, K.C.; Woolhouse, D.; Waller, K.; Syrmis, M.W.; Whitley, D.M.; Siebert, D.J.; Nissen, M.; Sloots, T.P. Molecular assays for detection of human metapneumovirus. *J. Clin. Microbiol.*, 41(1): 100-105, 2003.
- Mejias, A.; Chavez-Bueno, S.; Ramilo, O. Human metapneumovirus: a not so new virus. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 23(1): 1-7, 2004.
- Mirazo, S.; Ruchansky, D.; Blanc, A.; Arbiza, J. Serologic evidence of human metapneumovirus circulation in Uruguay. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 100(7): 715-718, 2005.
- Murphy, F.A.; Gibbs, O.S.; Horzinek, M.C.; Studdert, M.J. *Veterinary virology*. San Diego: Academic Press, 1999. Cap.
- Ng, E.K.; Cheng, P.K.; Ng, A.Y.; Hoang, T.L.; Lim, W.W. Influenza A H5N1 detection. *Emerg. Infect. Dis.*, 11(8): 1303-1305, 2005.
- Nissen, M.; Sloots, T.P. Molecular assays for detection of human metapneumovirus. *J Clin. Microbiol.*, 41(1): 100-105, 2003.
- Payungporn, S.; Chutinimitkul, S.; Chaisingh, A.; Damrongwantanapokin, S.; Buranathai, C.; Amonsin, A.; Theamboonlers, A.; Poovorawan, Y. Single step multiplex real-time RT-PCR for H5N1 influenza A virus detection. *J. Virol. Methods.*, 131(2):143-147, 2006.
- Percivalle, E.; Sarasini, A.; Visai, L.; Revello, M.G.; Gerna, G. Rapid detection of human metapneumovirus strains in nasopharyngeal aspirates and shell vial cultures by monoclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.*, 43(7):3443-3446, 2005.
- Perez, D.R.; Sorrell, E.M.; Donis, R.O. Avian influenza: an omnipresent pandemic threat. *Pediatr. Infect. Dis J.*, 24(11 Suppl):208-216, 2005.discussion S215.
- Peiris, J.S.; Tang, W.H.; Chan, K.H.; Khong, P.L.; Guan, Y.; Lau, Y.L.; Chiu, S.S. Children with respiratory disease associated with metapneumovirus in Hong Kong. *Emerg. Infect. Dis.*, 9(6): 628-633, 2003.
- Pollard, A.J.; Dobson, S.R. Emerging infectious diseases in the 21st century. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 13(3): 265-275, 2000.
- Taubenberger, J.K.; Reid, A.H.; Lourens, R.M.; Wang, R.; Jin, G.; Fanning, T.G. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature*, 437(7060):889-893, 2005.
- Taubenberger, J.K.; Morens, D.M. 1918 Influenza: the mother of all pandemics. *Emerg. Infect. Dis.*, 12(1): 15-22, 2006.
- Vicente D, Cilla G, Montes M, Perez-Trallero E. Human metapneumovirus and community-acquired respiratory illness in children. *Emerg Infect Dis.*, 9(5): 602-603, 2003.
- Van Den Hoogen, B.G.; de Jong, J.C.; Groen, J.; Kuiken, T.; de Groot R.; Fouchier, R.A.; Osterhaus, A.D. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med.*, 7(6): 719-724, 2001.
- Van Den Hoogen, B.G.; van Doornum, G.J.; Fockens, J.C.; Cornelissen, J.J.; Beyer, W.E.; de Groot, R.; Osterhaus, A.D.; Fouchier, R.A. Prevalence and clinical symptoms of human metapneumovirus infection in hospitalized patients. *J Infect Dis.*, 188(10): 2003.
- Webster, R.G.; Peiris, M.; Chen, H.; Guan, Y. H5N1 outbreaks and enzootic influenza. *Emerg Infect Dis.*, 12(1):3-8, 2006.
- Wright, P.F.; Webster, R.G. Orthomyxoviruses. In: KnipeDM, Howley, PM. *Fields virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. p.1533-1579.
- Woolhouse, M.E.J. Population biology of emerging and re-emerging pathogens. *Trends in Microbiol.*, 10(10, suppl):S3-S7, 2002.
- Yuen, K.Y.; Chan, P.K.; Peiris, M.; Tsang, D.N.; Que, T.L.; Shortridge, K.F.; Cheung, P.T.; To, W.K.; Ho, E.T.; Sung, R.; Cheng, A.F. Clinical features and rapid viral diagnosis of human disease associated with avian influenza A H5N1 virus. *Lancet*, 351(9101): 467-471, 1998.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). New laboratory assay for diagnostic testing of avian influenza A/H5 (Asian Lineage). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.*, 55(5):127, 2006.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Sydney Hartz Alves
 Andradas 1985/201, Santa Maria
 CEP. 97010-033 RS, Brasil
 E-mail: hartzsa@ccs.ufsm.br

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), Currículum 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 68º Concurso para Outorga do TEAC – Título de Especialista em Análises Clínicas, está previsto para ser realizado em 27/09/2008 de 08 às 12h (Prova Escrita/Slide) e 13:30 às 18h (Prova Oral), durante o 20º Congresso Internacional de Bioquímica Clínica e Medicina Laboratorial, 35º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas e 8º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica, em FORTALEZA - CE.

A taxa de inscrição para o Concurso do TEAC e TECC é no valor R\$ 198,00 (cada). Para os inscritos no 20º CIBCML, 35º CBAC e 8º CBCC, haverá desconto de 50% nas inscrições.

O prazo de recebimento das fichas de inscrição para o Concurso do TEAC será até o dia 06/09/2008, (data de postagem).

Lembramos que a ficha de inscrição e o pagamento da taxa para o 68º Concurso do TEAC, deverão ser enviados para a SBAC-Nacional, Rua Vicente Licínio, 99 – Tijuca – 20270.902 – RIO DE JANEIRO – RJ .

Para o candidato que deseje se preparar para o TEAC 2008, a SBAC disponibiliza aos interessados: o Programa TEAC 2005 e o Regulamento TEAC 2005.

**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**

Perfil de suscetibilidade à antibióticos de amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas no centro de diagnóstico da Unimed Belém – Pará*

Antimicrobials susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in Unimed-Belém diagnostic center

Patricia Bentes Marques^{1,2}; Antonia Benedita Rodrigues Vieira³; Maria das Graças Farias²; Rosilene de Oliveira Fernandes da Silva² & Jose Maria dos Santos Vieira²

RESUMO - A frequência de isolados de *P. aeruginosa* resistentes a antimicrobianos tem aumentado anualmente. O objetivo desse estudo foi avaliar a suscetibilidade de espécimes de *P.aeruginosa* isoladas no setor de microbiologia do Centro de Diagnóstico da Unimed - Belém. Foram analisadas 84 isolados de *P.aeruginosa*, no período de janeiro de 2004 a maio de 2005. O teste de suscetibilidade foi realizado através de automação no Mini Api da bioMerieux, com galeria ATB PSE e teste de Kirby Bauer. Os isolados apresentaram maior sensibilidade a piperacilina/tazobactam/piocianina (80.9%) e colistina (100%) e maior resistência a cotrimoxazol (95%), ampicilina/sulbactam (91.3%) e ticarcilina (81.6%). Os resultados desse estudo sugerem que um aumento na concentração de piperacilina/tazobactam pode ser uma opção para a terapêutica no tratamento de infecções por *P.aeruginosa*.

PALAVRAS-CHAVE - *P. aeruginosa*, antimicrobianos, suscetibilidade

SUMMARY - The prevalence of drugs resistance *P.aeruginosa* strains have been increasing every year. The aim of this study was to evaluate the antimicrobials susceptibility of *P.aeruginosa* strains from Unimed microbiology laboratory in Belém. A total of 84 samples were studied, from January, 2003 to March, 2004. Susceptibility test were performed by using the ATB PSE strip from Mini Api bioMerieux and Kirby-bauer disk diffusion method. The highest sensitivity of strains was observed to piperacillin/tazobactam/pyo (80.9%) and colistin (100%). The highest resistance rates of *P.aeruginosa* was observed to cotrimoxazol (95%), ampicillin/sulbactam (91.3%) and ticarcillin (81.6%). The results show that piperacillin/tazobactam "high level" can be a choice in the treatment of infection caused by *P. aeruginosa*.

KEYWORDS - *P. aeruginosa*, susceptibility, antimicrobials

INTRODUÇÃO

Pseudomonas aeruginosa é um bacilo aeróbio, gram-negativo, não fermentador, isolado de solo, água, plantas e animais, incluindo o homem (KONEMAN *et al* 2001). É uma das espécies bacterianas não fermentativas mais prevalente em espécimes clínicas de pacientes hospitalizados (TSAKRIS *et al* 2000; KARLOWSKY *et al* 2005), sendo a principal causadora de pneumonia nosocomial em hospitais brasileiros (SADER *et al* 2001; TORRES *et al*, 2004). A *P. aeruginosa* é frequentemente isolada a partir de amostras clínicas. As infecções em geral são observadas em sítios onde existem tendências ao acúmulo de umidade, como traqueostomia, cateteres permanentes, queimaduras, ouvido externo, feridas cutâneas exsudativas, também causam infecção no trato urinário e no trato respiratório inferior (FORBES *et al*, 1998).

A *P. aeruginosa* é uma bactéria altamente oportunista, invasiva, toxigênica, capaz de causar infecções em pacientes com defesas orgânicas comprometidas e apresenta fatores de virulência capazes de inativar o sistema imune e a ação de muitos antibióticos (KONEMAN, 2001). Infecções devido a *P. aeruginosa* são particularmente problemáticas por causa da resistência intrínseca que elas desenvolvem para múltiplas classes de antibióticos e a habilidade delas adquirirem resistência adaptável durante um curso terapêutico (KOLLEF, 2005). O surgimento de *P. aeruginosa* multiresistente a drogas tem sido relatado como crescentemente problemática em hospitais do mundo todo (BRATU *et al* 2005, GALLES *et al* 2001). Este trabalho teve como objetivo analisar o perfil de sus-

cetibilidade a antimicrobiano de linhagens de *P. aeruginosa* isoladas de amostras clínicas diversas analisadas no Laboratório de Microbiologia da UNIMED Belém, no período de janeiro de 2004 a maio de 2005, considerando a alta resistência que esta bactéria desenvolve frente aos antimicrobianos utilizados na prática médica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 84 isolados de *Pseudomonas aeruginosa* no setor de Microbiologia da Unimed de Belém-Pará, no período de janeiro de 2004 a maio de 2005. Esses espécimes foram identificados em amostras biológicas diversas de pacientes atendidos no Hospital Geral da Unimed Belém-PA. As amostras biológicas analisadas foram: urina, lavado brônquico alveolar (LBA), ponta de cateter (intracath), sangue, escarro, secreções em geral.

Para isolamento do patógeno foram utilizados os meios, ágar CPS ID 2, ágar chocolate, agar sangue, ágar Mac Conkey, de acordo com o sítio da infecção. A identificação da espécie bacteriana foi realizada por automação no aparelho Mini API da bio Merieux. Foi utilizada nessa identificação a galeria ID GN, para identificação de bactérias gram negativas. Para complementar a identificação de *P.aeruginosa*, foi utilizada análise em meio Rugai e oxidase.

O antibiograma foi realizado no aparelho de automação da Mini API da Bio MÉRIEUX, com a galeria ATB PSE adaptada para *P. aeruginosa* e demais bacilos gram negativos não fermentadores. Como análise paralela de casos de resistência a antibióticos foi realizada a técnica de disco-difusão padronizada pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003).

Recebido em 05/09/2006

Aprovado em 25/01/2007

*Trabalho realizado no setor de Microbiologia do Centro de Diagnóstico da Unimed- Belém.

¹Biomédica do Setor de Microbiologia do Centro de Diagnóstico Unimed-Belém; ²Departamento de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará; ³Departamento de Patologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará

Os antibióticos testados na galeria ATP PSE foram: Ampicilina/Sulbactam, Cefipima, Ceftazidima, Ciprofloxacina, Colistina, Cotrimoxazol, Gentamicina, Imipenem, Meropenem, Piperacilina./Piocianina, Piperacilina./Tazobactam/Piocianina, Piperacilina, Piperacilina/Tazobactam, Ticarcilina, Ticarcilina/Ac. Clavulânico, Ticarcilina/Ac., Clavulânico/Piocianina, Ticarcilina/Piocianina e Tobramicina.

RESULTADOS

Foram isoladas 84 amostras de *P. aeruginosa* de amostras clínicas diversas no Laboratório de Microbiologia da UNIMED-Belém no período de janeiro de 2004 a maio de 2005. De acordo com a Tab. 1 a urina foi a amostra biológica que apresentou maior frequência de isolamento de *P. aeruginosa* (34,1%), seguida de secreções (27,1%), lavado brônquico (21,2%), intracath (9,4%), sonda e escarro (3,5%) e hemocultura (1,2%).

Na tabela 2 observou-se que o perfil de suscetibilidade das amostras testadas frente a 18 antibióticos, revelou que os isolados foram mais sensíveis a colistina (100%) e piperacilina/tazobactam/piocianina (80,9%) e mais resistentes a cotrimoxazol (95%), ampicilina/sulbactam (91,3%) e ticarcilina (81,6%).

Em relação as cefalosporinas, ceftazidima e cefepime, a sensibilidade das cepas analisadas foi de 50,7% e 36%, respectivamente. (Tabela 2).

Quanto a ciprofloxacina percebeu-se que na análise geral da suscetibilidade dos espécimes (tabela 2) ocorreram valores de frequência próximos, entre as amostras sensíveis (41,5%) e resistentes (58,5%).

A análise da tabela 2, demonstrou que para os aminoglicosídeos a frequência de cepas sensíveis foi de 36,6% para gentamicina e 42,2% para tobramicina.

Em relação aos carbapenêmicos testados, 32,9% das cepas apresentaram resistência ao imipenem, já 52,1% foram resistentes ao meropenem. (Tabela 2)

Foi detectado nos isolados que as penicilinas associadas a inibidores de β -lactamases e a piocianina foram mais potentes, quando comparadas ao mesmo grupo de penicilinas, penicilinas/inibidores, β -lactamases e penicilinas/piocianina. Como pode ser observado, com a de piperacilina/tazobactam/piocianina (80,9%) em relação a piperacilina (42,9%), piperacilina/tazobactam (68%), piperacilina/piocianina (65%). Assim como, com a ticarcilina/ac. clavulânico/piocianina (65%) e a ticarcilina (18,4%), ticarcilina/ac. clavulânico (28,9%) e ticarcilina/piocianina (42%) (Tabela 2).

TABELA I

Freqüência de espécimes clínicos onde foram isoladas amostras de *P. aeruginosa* no Laboratório de Microbiologia da UNIMED Belém-PA, no período de janeiro de 2004 a maio de 2005.

Material	Nº	%
Urina	29	34,5
Secreções	22	26,2
Lavado brônquico	18	21,4
Intracath	8	9,5
Sonda	3	3,6
Escarro	3	3,6
Hemocultura	1	1,2
TOTAL	84	100

TABELA II

Suscetibilidade aos antimicrobianos de 84 amostras de *P. aeruginosa* isoladas de espécimes clínicos no Laboratório de Microbiologia da UNIMED Belém-PA, no período de janeiro de 2004 a maio de 2005.

Antibióticos	Nº de Amostras testadas	Amostras Sensíveis	Amostras Resistentes
Ampicilina/Sulbactam	80	7 (8,7%)	73 (91,3%)
Cefepima	75	27 (36,0%)	48 (64,0%)
Ceftazidima	75	38 (50,7%)	37 (49,3%)
Ciprofloxacina	82	34 (41,5%)	48 (58,5%)
Colistina	79	79 (100%)	0(0%)
Cotrimoxazol	80	4 (5,0%)	76 (95,0%)
Gentamicina	82	30 (36,6%)	52 (63,4%)
Imipenem	79	48 (60,8%)	31 (39,2%)
Meropenem	73	35 (47,9%)	38 (52,1%)
Piperacilina/Piocianina	66	43 (65,2%)	23 (34,8%)
Piperacilina/Tazobactam/Piocianina	68	55 (80,9%)	13 (19,1%)
Piperacilina	70	30 (42,9%)	40 (57,1%)
Piperacilina/Tazobactam	78	53 (68,0%)	25 (32,0%)
Ticarcilina	76	14 (18,4%)	32 (81,6%)
Ticarcilina/Ac. Clavulânico	76	22 (28,9%)	54 (71,1%)
Ticarcilina/Ac. Clavulânico/Piocianina	64	42 (65,6%)	22 (34,4%)
Ticarcilina/Piocianina	81	34 (42,0%)	47 (58,0%)
Tobramicina	83	35 (42,2%)	48 (57,8%)

TABELA III

Suscetibilidade a antibióticos de 84 amostras de *P. aeruginosa*, de acordo com o espécime clínico, isoladas no Laboratório de Microbiologia da UNIMED Belém-PA, no período de janeiro de 2004 a maio de 2005.

Antibióticos	Urina		Secre.		Lav.Br.		Intrac.		Sonda		Escar.		Hemoc.	
	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)
AMP/SUL	4,0	96,0	4,5	91,5	0	100	14,3	85,7	0	100	0	100	100	0
CEFIP	44,8	55,2	55,0	45,0	12,5	87,5	0	100	0	100	0	100	-	-
CEFTA	51,9	48,1	59,1	40,9	38,9	61,1	14,3	85,7	0	100	33,3	66,7	0	100
CIPROFL	37,9	62,1	59,1	40,9	16,7	83,3	50,0	50,0	33,3	66,7	66,7	33,3	100	0
COLIST	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
COTRIM	11,1	88,9	0	100	0	100	14,3	85,7	0	100	0	100	0	100
GENTAM	35,7	64,3	57,1	42,9	16,7	83,3	12,5	87,5	33,3	66,7	33,3	66,7	100	0
IMIPEN	67,9	32,1	25,0	75,0	42,8	57,2	14,3	85,7	66,7	33,3	66,7	33,3	100	0
MEROP	54,2	45,8	68,4	31,6	31,3	68,7	0	100	50,0	50,0	66,7	33,3	-	-
PIP./PIOC	76,0	24,0	76,8	23,2	40,0	60,0	25,0	75,0	0	100	50,0	50,0	-	-
PIP./TAZ/PIOC	76,9	23,1	88,2	11,8	86,7	13,3	50,0	50,0	0	100	100	0	-	-
PIPERAC	43,4	56,5	72,7	27,3	17,6	82,4	14,3	85,7	33,3	66,7	33,3	66,7	100	0
PIP/TAZ	65,2	34,8	72,8	27,2	88,2	11,8	37,5	62,5	33,3	66,7	33,3	66,7	100	0
TICA	14,8	85,2	33,3	66,7	16,7	83,3	14,3	85,7	0	100	33,3	66,7	0	100
TICA/A. CLAV	30,4	69,6	30,0	70,0	29,4	70,6	14,3	85,7	0	100	0	100	100	0
TICA/A.CLA/PIO	52,2	47,8	72,2	27,8	35,7	64,3	25,0	75,0	0	100	50,0	50,0	-	-
TICARC/PIOC	40,0	60,0	70,6	29,4	23,1	76,9	0	100	0	100	50,0	50,0	-	-
TOBRA	46,4	53,6	61,9	38,1	16,7	83,3	12,5	87,5	33,3	66,7	66,7	33,3	100	0

DISCUSSÃO

Em relação as amostras biológicas estudadas (Tabela 1) percebeu-se que a maior distribuição dos isolados de *P. aeruginosa* em urina, foi semelhante ao referido na literatura. Por outro lado, houve divergência quanto a distribuição de hemocultura, secreção em geral, intracath e material do trato respiratório inferior. (Frota *et al*, 1998; Santos Filho *et al*, 2002; Menezes *et al* 2003; Menezes *et al*, 2004). De acordo com Salles (2000) a colistina é um glicopeptídeo, cujo uso deve ser restrito as infecções graves por *P. aeruginosa* resistentes a outros antibióticos, em função de sua alta toxicidade. Esse estudo demonstrou uma alta sensibilidade das cepas a colistina, que foi predominante em todos os espécimes clínicos analisados (Tabela 3). A eficácia de colistina in vitro, também foi referida por Santos Filho *et al* (2002), Gales *et al* (2004) e Bratu *et al* (2005).

A menor sensibilidade dos isolados a ampicilina/sulbatam, cotrimoxazol, ticarcilina encontradas nesse estudo, corrobora com Choo (1995) e Barros(2001), que destacam o baixo espectro desses antibióticos no tratamento de infecções por *P.aeruginosa*.

Foi verificada maior sensibilidade das amostras a ceftazidima em relação a cefepime (tabela 2), esse perfil foi similar ao observado por Gales *et al* (1995), Menezes *et al* (2003), Van Elder (2003).

A ciprofloxacina tem sido relatada na literatura médica como uma boa opção terapêutica no tratamento de infecções urinárias, apresentando um espectro ativo contra *P.aeruginosa* (Barros 2001). No entanto foi constatado nesse estudo que essa quinolona foi pouco eficaz em boa parte das amostras estudadas (tabela 2), principalmente, nas provenientes do trato urinário (tabela 3).

Quanto ao perfil de suscetibilidade dos isolados aos carbapenêmicos, percebeu-se maior sensibilidade das cepas ao imipenem (60.8%) , em relação ao meropenem (47.9%). Esses dados diferem dos relatados por Shenoy *et al* (2002), que reportou uma sensibilidade de 100% de imipenem e meropenem na cepas estudadas.

Para Godoy *et al* (1989) e Salles (2000) o imipenem tem boa eficácia no tratamento de infecções por *P.aeruginosa*, apesar do risco de resistência no decorrer do tratamento. A sensibilidade do espécimes ao imipenem (60.8%) encontrada nesses estudo foi inferior a encontrados por Bonfiglio *et al* (1998) e Tumita *et al* (2003) (79.6%), Santos *et al* (2002) (80%) e Kalai *et al* (2004) (86%).

Em relação a sensibilidade da amostra aos aminoglicosídeos, foram detectados valores de sensibilidade próximos entre gentamicina (36.6%) tobramicina (49.4%), esse perfil também foi reportado por Menezes *et al* (2002). Entretanto, estudos de Van Eldere (2003) e Tsuji *et al* (2005) revelaram uma sensibilidade de *P.aeruginosa* a gentamicina e a tobramicina superior a 80%.

Quanto suscetibilidade dos isolados as penicilinas, percebeu-se que a piperacilina/tazobactam/piocianina (64 mg/l), que consiste em uma elevação na concentração de piperacilina/tazobactam (16 mg/l), foi a que obteve melhor eficácia na amostra estudada. Há poucos relatos na literatura em relação ao uso dessa "adaptação" na terapêutica (Gayral *et al*, 1984). Nessa perspectiva, esse estudo demonstrou que a boa sensibilidade "in vitro" da piperacilina/tazobactam/piocianina, o que permite que a mesma possa representar uma opção no tratamento de infecções por *P.aeruginosa*, já que embora esse estudo relate que todos os isolados testados foram mais sensíveis a colistina, o uso da mesma, deve ser indicados em situações específicas devido a sua toxicidade.

CONCLUSÃO

Os antibióticos menos potentes na amostra estudado foram cotrimoxazol, ampicilina/sulbactam, ticarcilina.

A piperacilina/tazobactam/piocianina e colistina foram os antibióticos de maior sensibilidade na amostra analisada. Esse estudo reforça a importância da análise microbiológica na epidemiologia de agentes etiológicos envolvidos em processos infecciosos, bem como, na monitorização de perfis de suscetibilidade, apoiando assim na terapêutica do paciente.

REFERÊNCIAS

BARROS, E; BITTENCOURT, H; CAMORI, M, L e MACHADO, A. Antimicrobianos: consulta rápida. Porto Alegre. Artmed editora-3 ed, 2001.
BONFIGLIO, G; LAKSAI, Y; FRANCESCINI, N; PERILLI, M; SERAFOTE, B; BIANCHI, C. STEFANI, S, AMICOSANTI, G, NICOLETTI, G. In vitro activity of piperacillin/tazobactam against 615 pseudomonas aeruginosa strain isolates on intensive care unit. Chemotherapy, 44 (5): 305-12.1998.
BRATU, S; QUALE, J; CEBULAR, S; HEDDURSHETTI, R. Multidrug-resistant

pseudomonas aeruginosa in Brooklyn, New York: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B. European J. Clin. Microbiol. & Infect. Dis. 24(3): 196-201, 2005.
CHOO, V. UK revises indications for co- trimoxazol. Lancet v. 346, p. 175, 1995.
FORBES, B.A; SAHM, D.F; WEISSFELD, A.S. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Tenth Edition, Missouri:MOSBY,1998.
FROTA, C.C; MOREIRA, J.L.B. Frequency of nonfermentative gram -negative bacilli isolated from clinical material of patients at Universidade Federal do Ceará Hospital complex Brazil. Rev. Microbiol. 29 (5): 25-31.1998
GALES, A.C; SADER, H.S; MACHADO, A.M.O; JONES, R.N; PIGNTARI, A.C. A comparação das atividades antimicrobianas em 1015 amostras bacterianas isoladas no Hospital São Paulo. J bras patol; 31 (2): 55-60, 1995
GALLES, A.C; JONES , R.N Characterization of Pseudomonas aeruginosa infection isolates: Occurrence rates, antimicrobial susceptibility patterns, and molecular typing from the global SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. Clin. Infect. Dis. 32(Suppl 2): 146-155, 2001.
GALES, A.C; TORRES, P.L; VILARINHO, D.S.O; MELO, R.S, SILVA, C.F.L; CEREDA, R.F.Carbapenem-resistance Pseudomonas aeruginosa outbreak in na intensive care unit of a teaching hospital. The Brazilian Journal of Infectious Disease; 8 (4): 267-271.2004.
GAYRAL, J.P; CLUZEL, R; MIERMONY, C; PONS, M; BISMUTH, R; BAZIRE, B; LANGRAGE, P.G, DUVAL, J; SOUSSY, C.J; TESSIER, F; DAUGET, G.L; THABAUT, A; VERGEZ, P. Test sensibilité aux antibiotiques. Etude multicentrique comparative de la méthode de diffusion en gélose et de la méthode ATB. Path. Biol..32 (5):347-350, 1984.
GODOY, C.V; MENDES, C.M; MÍMICA, O.M; SSUASSUNA, I; UZEDA, M. Estudo de suscetibilidade in vitro a um novo antimicrobiano (imipenem) de patógenos isolados de pacientes hospitalares em vários centros. Ver Inst Méd Trop São Paulo, 31 (3): 169-76, 1989.
KALAI, S; JOUAUHIA, W; MAHJUBI, F; GHOZZI, R; THABET, L; Bem REJEB, S; HAMMAMI, A; KECHRIS, A; BEM HASSEM, A. Pseudomonas aeruginosa: a multicentric study os antibiotic resistance (1999-2000). Tunis Med, 82 (12):1070-4, 2004.
KARLOWSKY, J.A, JONES, M.E; THORNSEBERRY, C; EVANGELISTA, A.T; YEE, Y.C; SAHM, D.F. Stable antimicrobial susceptibility rates for clinical isolates of pseudomonas aeruginosa from the 2001-2003 tracking resistance in the United States today surveillance studies. Clin. Infect. Dis. 15:40 (Suppl 2): 89-88, 2005.
KOLLEF, M.H. gram-negative bacterial resistance: evolving patterns and treatment paradigms. Clin. Infect. Dis. 15:40 (Suppl 2): 85-88, 2005.
KONEMAN, E.W; ALLEN, S.D; JANDA, W.M; SCHREKENBERGER, P.C . Diagnóstico Microbiológico-Texto e Atlas Colorido. 5ª edição, Rio de Janeiro: MEDSI, 2001.
MENEZES, E.A; MACEDO,F.V.V, F.C; CUNHA, F.A; ANDRADE, M.S.S & ROCHA, M.V.A.P.Perfil de infecção e resistência aos antimicrobianos de bacilos gram negativos não fermentadores isolados no Laboratório de Patologia Clínica Dr. Edilson Gurgel, Santa Casa de Misericórdia de Fortaleza – CE. Rev. Bras. Anal. Clin. Vol. 35 (4).p.177-180, 2003.
MENEZES, E.A; SILVEIRA, A .S; CUNHA, F.A; CAVALCANTE, M.S; TIXEIRA, A.B; OLIVEIRA, I.R.N& SALVIANO, M.N.C. Pseudomonas resistentes a antimicrobianos isolados no Complexo Hospitalar da Universidade federal do Ceará. Rev. Bras. Anal. Clin. Vol. 35 (4).p.177-180, 2003.
NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 (ISBN 1-56238-485-6). Wayne, Pennsylvania, USA, 2003.
SADER, H.S; GALES, A.C; PFALLER, M.A. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. BJID. 5(4):201-213, 2001.
SALLES, J.M.C; SALLES, M.J.C. Antimicrobianos (Antibacterianos, Antifúngicos, Antivirais, Antiparasitários) - Quando Indicar, Como Usar. Pará: EDUFPA, SALLES, J.M.C e SALLES, M.J.C. Antimicrobianos (Antibacterianos, Antifúngicos, Antivirais, Antiparasitários) - Quando Indicar, Como Usar. Pará: EDUFPA,2000.
SANTOS FILHO, L; SANTOS, I.B; ASSIS, A.M.L; XAVIER, D.E. Determinação da produção de metalo-betalactamase em de Pseudomonas aeruginosa isoladas em João Pessoa na Paraíba. J. Bras Patologia. 38: 291-96.2002
SHENOY, S; BALIGA, S; SALDANHA, D.R; PRASHANT , H.V. Antibiotic sensitivity patterns os Pseudomonas aeruginosa strains isolates from varius clinical specimens. Indian J Méd Sci, 56(9):427-30, 2002.
TORRES, A.C.G; VILARINHO, D.S.O; MELO, R.S; SILVA, C.F.L; CEREDA, R.F. Carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa outbreak in na intensive care unit of a teaching hospital. Brazil. J. Infect. Dis. 8(4): 267-271, 2004.
TSAKRIS, A. Outbreak of infections caused by pseudomonas aeruginosa producing VIM-1 carbapenemase in Greece. J. Clin. Microbiol. 38: 1290-1292, 2000.
TUMITAN, A. R; PIZZOLITTO, A.C. Padrão de sensibilidade a antimicrobianos de bacilos gram negativos não fermentadores isolados de materiais clínicos de pacientes em Presidente Prudente – SP. Ver. Ciênc.farm, 24 (2): 131-139, 2003.
TSUJI , A; KOBAYASHI, I; OGUJI, T; INOUE, M, YABUUCHI, E; GOTO, S. An epidemiological study of the susceptibility and frequency of multiple-drug-resistant strains of Pseudomonas aeruginosa isolated at medical institutes nationwide in Japan.J Infect Chemother, 11 (2): 64-70,2005.
VAN ELDERE, J. Multicentre surveillance of Pseudomonas aeruginosa susceptibility patterns in nosocomial infections.J Antimicrob Chemother.51 (2):347-52.2003

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Dra Patrícia Bentes Masques
Rua Caripunas, 3660/201, Guamá
CEP. 66063-040 Belém - PA

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

Agentes microbiológicos em exames citopatológicos: estudo de prevalência

Microbiologic agents in cervical smears: a study of prevalence

Andrea Alves Ribeiro¹, Daniel Fernandes de Oliveira¹, Mara Cristina Nolasco Sampaio¹, Megmar Aparecida dos Santos Carneiro¹, Suelene Brito do Nascimento Tavares¹, Nadja Lindany Alves de Souza¹, Gislaíne Aparecida Fonseca-Carvasan², Joana Darc Ximenes Alcanfor¹ & Sílvia Helena Rabelo dos Santos¹

RESUMO - Objetivo: Vaginose bacteriana, candidíases e tricomoníases representam cerca de 90% das desordens de origem infecciosa do trato genital feminino. Este estudo tem como objetivo determinar a prevalência de vaginose bacteriana e de infecções por *Trichomonas vaginalis* e *Candida* sp e correlacionar com a faixa etária das mulheres incluídas.

Material e Métodos: Os resultados de 7004 esfregaços citopatológicos analisados no Laboratório Rômulo Rocha da Universidade Federal de Goiás durante o ano de 2005 foram utilizados para a análise. A distribuição dos resultados em relação à presença ou ausência das referidas infecções foi analisada em um modelo estratificado por faixa etária.

Resultados: As prevalências totais foram de 20% (1412/7004) para vaginose bacteriana, 8% (565/7004) para *Candida* sp e 2% (124/7004) para *Trichomonas vaginalis*. Maiores frequências de infecções do trato genital feminino foram observadas entre mulheres de 21 a 40 anos. As prevalências de vaginose bacteriana, *Candida* sp e *Trichomonas vaginalis* nesta faixa etária foram de 58% (812/3883), 65% (367/3883), 59% (73/3883) respectivamente.

Conclusão: Maiores prevalências de agentes microbiológicos na faixa etária de 21 a 40 anos podem refletir o fato de que estes microorganismos utilizam como substrato o glicogênio, cujo acúmulo celular está relacionado à estimulação hormonal.

PALAVRAS-CHAVE - Vaginose bacteriana, tricomoníases, candidíases

SUMMARY - Objective: Bacterial Vaginosis, trichomoniasis and candidiasis are responsible about 90% of disorders infectious origin of reproductive tract. The objective of this study was to determinate the prevalence of bacterial vaginosis, of *Trichomonas vaginalis* and *Candida* sp and to correlate with the included women's age group.

Material and Methods: The results of 7004 cytopathologic smears analyzed at Laboratório Rômulo Rocha of Universidade Federal de Goiás during the 2005th were used for the analysis. The distribution of the results in relation to the presence or absence of the referred infections was analyzed in a model stratified by age group.

Results: The total prevalence was 20% for bacterial vaginosis, 8% (565/7004) for *Candida* sp and 2% (124/7004) for *Trichomonas vaginalis*. Higher frequencies of reproductive tract infections had been observed among women from 21 to 40 years. The prevalence of bacterial vaginosis, *Candida* sp and *Trichomonas vaginalis* were of 58% (812/3883), 65% (367/3883), 59% (73/3883) respectively.

Conclusion: The higher prevalence of microbiologic agents in the 21 to 40 year-old age group can reflect the fact that these microorganisms use as substratum the glycogen, whose cellular accumulation is related to the hormonal stimulation.

KEYWORDS - bacterial vaginosis, trichomoniasis, candidiasis.

INTRODUÇÃO

Inflamações e/ou infecções vaginais constituem uma das principais causas de queixas em mulheres que procuram clínicas ginecológicas. Vaginose bacteriana, tricomoníases e candidíases representam cerca de 90% das desordens de origem infecciosa no trato genital feminino (Adad *et al.*, 2001). A vaginose bacteriana (VB) é considerada atualmente a infecção vaginal de maior prevalência em mulheres em idade reprodutiva. Essa síndrome polimicrobiana pode ser definida como uma alteração da microbiota vaginal normal caracterizada pela substituição de lactobacilos normalmente predominantes, por uma flora composta predominantemente por bactérias anaeróbias estritas e facultativas (*Gardnerella vaginalis*, *Prevotella* sp, *Bacteroides* sp, *Mobiluncus* sp e *Peptostreptococcus* sp) (Hiller *et al.*, 1999). A VB não possui etiologia definida, porém fatores extrínsecos como a alta frequência de coitos, a utilização do DIU, espermicidas, antibióticos de largo espectro e o hábito de usar duchas vaginais têm sido associados ao aumento desta infecção. Por outro lado, o uso de contraceptivos hormonais, que promovem uma flora predominantemente lactobacilar (Giraldo *et al.*, 2005). A ocorrência de VB está associada a diversas complicações ginecológicas tais como: Doença Inflamatória Pélvica (DIP), ocorrência de endometrites pós-cesária e partos prematuros (McLean & Rosenstein, 2000).

A candidíase é o segundo tipo mais comum de vulvovaginite. Estima-se que 75% das mulheres em idade reprodutiva já tiveram algum episódio de infecção por *Candida* sp, 40-45% destas tiveram recorrência e 10-20% apresentaram complicações (Battaglia *et al.*, 2005). A candidíase vaginal é caracterizada por uma inflamação em consequência à uma infecção por microrganismos do gênero *Candida*, frequentemente *Candida albicans*. Numerosos fatores podem estar relacionados à infecção por *Candida* sp (Giraldo *et al.*, 2005). O tratamento com antibióticos e corticosteróides, diabetes mellitus, gestação e imunossupressão são alguns dos fatores de risco para o estabelecimento desta vulvovaginite. Outros fatores discutidos são o uso de anticoncepcionais orais, dispositivo intra-uterino (DIU), sexo oral, alta ingestão de carboidratos e estresse (Ehrström *et al.*, 2005). Outra infecção que frequentemente afeta o trato genital feminino é a tricomoníase. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou em 170 milhões os casos de tricomoníase no mundo, anualmente, em pessoas entre 15 e 49 anos, com a maioria (92%) ocorrendo em mulheres. Essa infecção, causada pelo *Trichomonas vaginalis*, é a doença sexualmente transmissível (DST) não-viral mais comum no mundo (Maciel *et al.*, 2004). A incidência da infecção depende de vários fatores, incluindo idade, atividade sexual, número de parceiros sexuais, outras DSTs, fase do ciclo menstrual e condições sócioeconômicas (Belkum *et al.*, 2001).

Recebido em 22/08/2007

Aprovado em 06/02/2007

¹Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Goiás

²Faculdade de Ciências Médicas – Universidade Estadual de Campinas

Vaginose bacteriana, candidíases e tricomoníases representam cerca de 90% das desordens de origem infecciosa do trato genital feminino (Adad *et al.*, 2001). Análises realizadas estabelecendo a frequência dos agentes infecciosos mais comuns no trato genital feminino revelaram índices para *Gardnerella vaginalis* entre 8% e 75%, para *Candida sp* entre 2,2% e 30% e para *Trichomonas vaginalis* entre 0 e 24%. Geralmente essas infecções atingem mulheres com idade acima de 20 e abaixo de 50 anos de idade. (Adad *et al.*, 2001).

O estudo proposto tem como objetivo determinar a prevalência de infecções por *Gardnerella vaginalis* em contexto de microflora invertida, de *Trichomonas vaginalis* e de *Candida sp* e correlacionar com a faixa etária das mulheres incluídas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 7004 exames citopatológicos de mulheres atendidas nas diversas Unidades Básicas de Saúde de Goiânia e enviados ao Laboratório Rômulo Rocha da Universidade Federal de Goiás durante o ano de 2005. Os exames foram realizados pelos citologistas do Laboratório Rômulo Rocha e os dados foram obtidos a partir das fichas de requisição. O banco de dados foi elaborado no programa EPI-INFO 2002 e a análise estatística realizada pelo programa SAS (1999).

Os resultados, em relação à presença ou ausência dos agentes microbiológicos, foram distribuídos em um modelo estratificado por faixa etária. Os seguintes intervalos foram analisados: <20 anos, 21-30 anos, 31-40 anos, 41-50 anos, 51-60 anos, >61 anos.

RESULTADOS

Considerando os 7004 exames citopatológicos realizados pelo Laboratório Rômulo Rocha em 2005 a prevalência total dos agentes microbiológicos analisados foi de 30%. A prevalência de vaginose bacteriana foi de 20% (1412/7004). As prevalências de infecções por *Candida sp* e *Trichomonas vaginalis* foram de 8% (565/7004) e 2% (124/7004), respectivamente (Gráfico 1).

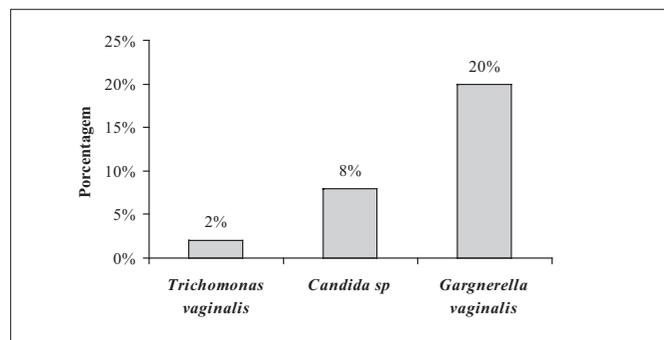


Gráfico 1- Prevalência dos agentes microbiológicos de mulheres atendidas no Laboratório Rômulo Rocha em 2005

Mulheres com menos de 20 anos apresentaram maiores prevalências de vaginose bacteriana (25% 200/788) e de infecção por *Candida sp* (13% 105/788). As prevalências destes agentes microbiológicos em mulheres de 21-30 e 31-40 anos foram semelhantes. Mulheres na faixa etária entre 51 a 60 apresentaram menores prevalências destes agentes microbiológicos. Estas prevalências foram ainda menores considerando mulheres com mais de 60 anos. Em relação às infecções por *Trichomonas vaginalis*, observou-se uma distribuição homogênea nas diversas faixas etárias analisadas. (Tabela 1).

TABELA I

Prevalência dos agentes microbiológicos por faixa etária

Faixa Etária	<i>Gardnerella vaginalis</i>		<i>Candida sp</i>		<i>Trichomonas vaginalis</i>		Total n
	Positivos n(%)	Negativos n(%)	Positivos n(%)	Negativos n(%)	Positivos n(%)	Negativos n(%)	
<=20 anos	200 (25%)	588 (75%)	105 (13%)	683 (87%)	13 (2%)	775 (98%)	788
21-30 anos	474 (22%)	1696(78%)	205 (9%)	1965 (91%)	35 (2%)	2135 (98%)	2170
31-40 anos	338 (20%)	1375 (80%)	162(9%)	1551 (91%)	38 (2%)	1675 (98%)	1713
41-50 anos	256 (21%)	984 (79%)	56 (5%)	1184 (95%)	25 (2%)	1215 (98%)	1240
51-60 anos	116 (16%)	604 (84%)	27 (4%)	693 (96%)	11 (2%)	709 (98%)	720
>=61 anos	28 (8%)	345 (92%)	10 (3%)	363 (97%)	2 (1%)	371 (99%)	373
Total	1412 (20%)	5592 (80%)	565 (8%)	6439 (92%)	124 (2%)	6880 (98%)	7004

Considerando os casos positivos, maiores prevalências de infecções do trato genital feminino ocorreram nas faixas etárias de 21 a 30 e 31 a 40 anos. Vaginose bacteriana foi observada mais frequentemente observada em mulheres de 21 a 30 anos (34% 474/1412) e em mulheres entre 31 a 40 anos (24% 338/1412). Menores frequências foram observadas em mulheres acima de 50 anos. Infecções por *Candida sp* também foram mais frequentes em mulheres de 21-30 anos (36% 205/565) e em mulheres de 31 a 40 anos (29% 162/565). Maiores frequências de infecção por *Trichomonas vaginalis* também foram observadas nestas faixas etárias. Mulheres com menos de 20 anos de idade apresentaram maiores prevalências de infecção por *Candida sp* (18% 105/565) e de vaginose bacteriana (14% 200/1412), quando comparadas às infecções causadas por *Trichomonas vaginalis* (10% 13/124) (Gráfico 2).

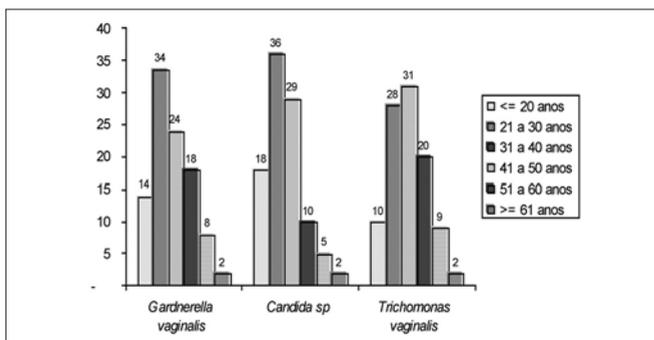


Gráfico 2- Distribuição das infecções por agentes microbiológicos de acordo com a faixa etária

DISCUSSÃO

O equilíbrio do ecossistema vaginal é mantido por complexas interações entre a flora vaginal dita normal, os produtos do metabolismo microbiano, o estado hormonal e a resposta imune do hospedeiro (Giraldo *et al.*, 2005). No trato genital feminino, a flora normal da vagina é grandemente influenciada pelos hormônios sexuais. A população lactobacilar na vagina cresce devido a um aumento dos estrógenos que, conseqüentemente fazem o glicogênio se acumular nas células que revestem a vagina. Os lactobacilos convertem o glicogênio em ácido láctico e o pH da vagina torna-se ácido (3,8 a 4,5). O predomínio de *Lactobacillus sp*, capazes de produzir H₂O₂ e ácido láctico contribui para a inibição do crescimento de vários outros microorganismos nocivos à mucosa vaginal. Essa seqüência de glicogênio-ácido láctico fornece as condições para que a flora normal mantenha-se viável (Tortora *et al.*, 2005).

Um distúrbio desse ecossistema por um aumento no glicogênio, causado por contraceptivos orais, gestação, eliminação da flora normal por antibióticos, podem levar à infla-

mação da vagina (Tortora *et al.*, 2005). Estes processos inflamatórios podem ser acompanhados por processos infecciosos determinados por agentes microbiológicos, sendo mais comuns os determinados por inversões na flora vaginal normal, caracterizando a vaginose bacteriana, e os desencadeados por *Candida* sp e *Trichomonas vaginalis*. Um estudo realizado por Lara *et al.* (1999), mostrou que as prevalências totais de infecções por *Gardnerella vaginalis*, *Candida* sp e *Trichomonas vaginalis* foram 14,1%, 6,9% e 1,1% respectivamente. Estes resultados são semelhantes aos encontrados neste estudo.

A vaginose bacteriana resulta de mudanças na microbiota vaginal normal, causando um aumento dos organismos anaeróbios e uma diminuição dos *Lactobacillus* sp, sendo muito comum em mulheres em idade reprodutiva. (Demba *et al.*, 2005). Neste estudo, a vaginose bacteriana foi mais freqüentemente observada em mulheres em idade reprodutiva. Esses resultados são consistentes com dados da literatura que relatam que mulheres mais jovens, geralmente, são as maiores responsáveis pelos atendimentos ginecológicos, possivelmente não por interesse na prevenção do câncer de colo do útero, como se poderia pensar, mas pela necessidade de tratamento de leucorréias e vulvovaginites freqüentemente ocasionadas por *Gardnerella vaginalis* (Brenna *et al.*, 2001).

A infecção por *Gardnerella vaginalis* freqüentemente tem sido associada a fatores sócio-culturais como idade, falta de educação sexual adequada, grau de escolaridade e ocupação; que acabam por se refletir por atitudes associadas a maus hábitos de higiene, como grande número de parceiros, início precoce da vida sexual ativa principalmente associada à falta de uso de preservativos (Brenna *et al.*, 2001). Por conseguinte, a vaginose bacteriana pode apresentar alguns aspectos de doença sexualmente transmissível, embora não possa ser considerada como tal, apesar de ser uma das condições mais comuns em clínicas ginecológicas e de DST (Demba *et al.*, 2005).

Este estudo mostrou que há uma maior prevalência de infecção por *Candida* sp em mulheres com menos de 20 anos e naquelas incluídas no intervalo de 21 a 40 anos. De fato, segundo Cavalcante *et al.* (2005), a *Candida* sp raramente é isolada em mulheres pré-menárquicas ou na pós-menopausa, sugerindo uma dependência hormonal para a ocorrência da infecção, devido ao aumento da quantidade de glicogênio, principalmente no período pré-menstrual. Além da relação hormonal, a maior ocorrência desta patologia na população jovem poderia ter relação com hábitos sexuais, de higiene ou comportamentais (Geiger *et al.*, 1995). Os resultados encontrados neste estudo mostram uma diminuição na infecção por *Candida* sp à medida que a faixa etária aumenta.

A incidência da infecção por *Trichomonas vaginalis* está relacionada à idade, atividade sexual, número de parceiros sexuais, outras DSTs, fase do ciclo menstrual e condições sócio-econômicas. Diferenças no padrão de vida, nível educacional e higiene pessoal são outros fatores importantes que influenciam na incidência da infecção. A prevalência é alta entre os grupos de nível socioeconômico baixo, entre pacientes de clínicas ginecológicas, pré-natais e em serviços de doenças sexualmente transmissíveis. (Maciel *et al.*, 2004). A infecção por *Trichomonas vaginalis* também foi mais freqüente em mulheres em idade reprodutiva. Neste estudo, observou-se menor prevalência de infecção por *Trichomonas vaginalis* quando comparado à prevalência dos demais agentes microbiológicos analisados. Rivera *et al.* (1996), encontraram uma freqüência de 1,7% para in-

fecção por *Trichomonas vaginalis*, resultado semelhante ao observado neste estudo.

Em resumo, maiores prevalências de agentes microbiológicos na faixa etária de 21 a 40 anos podem refletir o fato de que estes microorganismos utilizam como substrato o glicogênio, cujo acúmulo celular está relacionado à estimulação hormonal.

REFERÊNCIAS

1. Adad SJ, Lima RV, Savan ZT, Silva MLG, Souza MAH., Saldanha JC, Falco VL, Cunha AH, Murta EFC. Frequency of *Trichomonas vaginalis*, *Candida* sp and *Gardnerella vaginalis* in cervical-vaginal smears in four different decades. São Paulo Med. J. – Revista Paulista de medicina 2001; 119(6): 200-5.
2. Battaglia F, Mariani L, Anglana F, Millite V, Quattrini M, Plotti F, Tomao F, Plotti G. Vuvovaginal candidiasis: a therapeutic approach. Minerva Ginecol 2005; 52 (2): 131-9.
3. Bremma SMF, Hardy E, Zeferino LC, Namura I. Conhecimento Atitude e Prática do Exame Papanicolaou em Mulheres com Câncer do Colo Uterino. Caderno de Saúde Pública RJ 2001; 17(4): 909-914.
4. Cavalcant VLN, Miranda AT, Portugal GMP. Rastreamento de Candidose Vaginal Durante a Prevenção do Câncer Cérvico-Uterino-DST- J bras Doenças Sex Transm 2005;17 (1): 44-48.
5. Demba E, Morison L, Loeff S, Awasana AA, Gooding E, Bailey R, Mayaud P, West B. Bacterial vaginosis, vaginal flora patterns and vaginal hygiene practices in patients presenting with vaginal discharges syndrome in the Gambia, West Africa. BMC Infectious Diseases 2005; 5 (12): 1-12.
6. Ehrström SM, Kornfeld-DAN Thuresson, Rylander E. Signs of chronic stress in women with recurrent candida vulvovaginitis. American journal of obstetrics and gynecology 2005; 193:1376-81.
7. Eleuterio Junior J, Cavalcante DIMC. Contagem de Morfotipos de *Mobiluncus* sp e Concentração de Leucócitos em Esfregaços Vaginais de Pacientes com Vaginose Bacteriana. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria 2004; 26 (3): 221- 5.
8. Geiger AM, Foxman B, Sobel JD. Chronic vulvovaginal candidiasis: characteristics of women with *Candida albicans*, *C. glabrata* and no candida. Genitourinary Medicine, 71:5 304-307, 1995.
9. Giraldo PC, Amaral RLG, Gonçalves AK, Vicentini R, Martins CH, Giraldo H, Fachini AM. Influência da freqüência de coitos vaginais e da prática de duchas higiênicas sobre o equilíbrio da microbiota vaginal. Rev Bras Ginecol Obstet 200; 52(5):257-62.
10. Giraldo PC, Gonçalves AKS, Cornetta MCM, Amaral RLG, Giraldo HPD. Patologia do Trato Genital Inferior. Ed ROCA São Paulo 2005; (13): 140.
11. Hiller SL, Holmes KK. Bacterial vaginosis. In Sexually Transmitted Diseases 3° Ed McGraw-Hill New York; 1999:563-586.
12. Lara BMR, Fernandes PA, Miranda D. Diagnósticos cérvico-vaginais em laboratório de médio porte de Belo Horizonte MG. RBAC 1999; 31:37-40.
13. Maciel GP, Tasca T, Carli-de GA. Aspectos clínicos, patogênese e diagnóstico de *Trichomonas Vaginalis*. Jornal Brasileiro de Patologia Medico Laboratorial 200; 440 (3):152-60.
14. McLean NW, Rosentein J. Characterisation and selection of a *Lactobacillus* species to re-colonise the vagina of women with recurrent bacterial vaginosis. Journal Medicine Microbiologyc 2000; 49 (2000): 543-552.
15. Riviera LR, Trenaldo MQ, valdez AC, Gonzalez CJC. Prevalência de vaginitis y vaginosis bacteriana: associassón con manifestaciones clínicas, de laboratorio y tratamiento. Ginec y Obst Mex 1996; 64: 26-35
16. Schwwiertz A, Taras D, Rusch K, Rusch V. Throwing the dice for the diagnosis of vaginal complaints? Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 2006; 5 (4): 1-7.
17. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Microbiologia 8° Ed. Artmed Porto Alegre RS 2005: 743.
18. Van Belkum A, Van der Schee C, Van der Meijden WI, Verbrugh HA, Sluiter HJF. A clinical study on the association of *Trichomonas vaginalis* and *microplasma hominis* infections in Women attending a sexually transmitted disease (STD) outpatient clinic. FEMS Immunology and Medical Microbiology 2001; 32: 27-32.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Profa. Dra. Silvia Helena Rabelo dos Santos
Rua 9 n° 326 Apto 1502 St. Oeste
CEP: 74110-100
Fone: (62) 3209-6044 ramal 302
E-mail: shrabelo@farmacia.ufg.br

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

Biofilme detectado em ponta de cateter venoso central por cultura usando método quantitativo*

Biofilm detection on central venous catheter using a quantitative culture method

Anisio Storti¹, Antonio Carlos Pizzolitto¹, Richard A. Stein² & Elisabeth Loshchagin Pizzolitto^{1*}

RESUMO - O cateter venoso central é um instrumento médico muito usado no monitoramento de pacientes em estado crítico. O uso destes cateteres expõe o paciente ao risco de infecções locais e sistêmicas. O objetivo deste estudo foi detectar a presença de microrganismos que colonizam cateteres venosos centrais usando método quantitativo de cultura. No período de um ano foram analisadas 118 pontas de cateter venoso central e 42 amostras de sangue de veia periférica colhidas de 100 pacientes internados em unidade de terapia intensiva de um hospital (idade média de 57,8±0,3). De um segmento de 2,0cm foi realizada uma cultura quantitativa usando a água Mili-Q que lavou a superfície interna do cateter, após agitação em vortex. De uma diluição 1/10, uma alíquota de 100µl foi semeada em placas de ágar sangue. As colônias foram relatadas como UFC/ml. Este método requer crescimento ≥10³ UFC/ml para mostrar que o cateter esta colonizado. Os dados obtidos mostraram que 28,8% pontas estavam colonizadas. Foram isolados 33 cepas microbianas Gram-positivas predominando *S. aureus* (30,7%), *S. epidermidis* (7,7%) e *C. albicans* (1,9%). Dezenove Gram-negativas, das quais *A. baumannii* (9,7%), *E. aerogenes* (5,8%), *P. aeruginosa* (3,9%) e *S. maltophilia* (3,9%) foram isolados. Das 42 culturas de sangue, quatro foram positivas e duas mostraram *S. aureus*, uma *S. maltophilia* e uma *C. freundii*. O perfil de suscetibilidade de *S. aureus* mostrou múltipla resistência antimicrobiana aos aminoglicosídeos, cloranfenicol, lincosamidas, macrolídeos, penicilinas, quinolonas, sulfonamidas e tetraciclina.

PALAVRAS-CHAVE - biofilme em cateter venoso central, cultura de ponta de cateter, método quantitativo, infecção relacionada ao cateter venoso central, colonização de cateter venoso central.

SUMMARY - The central venous catheter is a much used device for monitoring critically ill patients. However the use of these catheters puts the patients at risk for local and systemic infections. The aim of this study was to detect microorganisms colonizing on central venous catheters by culture using the quantitative technique. Over a one year period 118 catheters tips were analysed, and 42 blood samples collected from peripheral vein taken from 100 patients from the intensive care unit (average of 57.8±0.3). From a segment of 2.0cm a quantitative culture was made using the water that cleaned the internal surface of the catheter, after being vortexed. From a 1/10 dilution an aliquot of 100µl was seeded on blood agar plates. The growing colonies were referred to as CFU/ml. This method requires a colony growth of ≥10³ UFC/ml to show catheter colonization. Data obtained showed that 28.8% tips were colonized. Thirty three Gram-positive bacteria were isolated, from which *S. aureus* (30.7%), *S. epidermidis* (7.7%) and *C. albicans* (1.9%) predominated. Nineteen Gram-negative included *A. baumannii* (9.7%), *E. aerogenes* (5.8%), *P. aeruginosa* (3.9%) and *S. maltophilia* (3.9%) were isolated. From 42 blood cultures four were positive, and two showed *S. aureus*, one *S. maltophilia* and one *C. freundii*. The *S. aureus* susceptibility profile showed multiple antimicrobial resistance to aminoglycosides, chloramphenicol, lincosamides, macrolides, penicillins, quinolones, sulfonamides and tetracyclines.

KEYWORDS - central venous catheter biofilm, catheter tip culture, quantitative method, infection related to central venous catheter, central venous catheter colonization.

INTRODUÇÃO

O uso hospitalar do cateter venoso central, introduzido desde 1945, é amplamente aceito em todas as áreas da medicina clínica²². O cateter intravascular é usado para fins de diagnóstico, terapia intravenosa, bem como, monitorar a pressão do sangue e outras funções hemodinâmicas, especialmente em Unidades de Terapia Intensiva⁴⁸. Em muitas situações clínicas os benefícios do uso são significativos, mas a infecção relacionada ao cateter permanece uma constante causa de infecção hospitalar e está associada a significativa mortalidade e morbidade de pacientes e elevados custos de permanência hospitalar³⁵. Estima-se que metade dos pacientes admitidos em hospital recebem terapia intravenosa e ficam expostos ao risco de infecções local e sistêmica³³. O diagnóstico da infecção relacionada ao cateter é difícil porque nem todos os pacientes apresentam os sinais de inflamação no local de saída do cateter e quando os sinais estão presentes, o exsudato do sítio de saída deveria ser enviado para o laboratório para ser corado pelo Gram e realização da cultura; duas amostras de sangue também deveriam ser colhidas⁴⁷. Entretanto, a infecção só é confirmada após a retirada do cateter e isto, com frequên-

cia, é desnecessário e de alto custo⁵. Muitos métodos microbiológicos estão disponíveis para auxiliar no diagnóstico de infecção relacionada ao cateter, embora não haja um consenso de opinião de quais métodos usar^{17,51}. Antes da técnica de Maki *et al.*²⁸, em 1977, a maioria dos laboratórios usavam o método qualitativo descrito por Druskin e Siegel¹⁶, em 1963, que consistia na imersão da ponta do cateter em caldo de cultura²⁰. Nesse procedimento qualitativo, o crescimento de microrganismos do cateter era indicado pela turvação do caldo após a incubação. Entretanto, a presença ou ausência de turvação não podia distinguir entre contaminação, colonização e infecção, porque uma única bactéria era o suficiente para tornar a cultura positiva³. Maki *et al.*²⁸, em 1977, padronizaram a técnica da cultura semi-quantitativa da ponta do cateter e determinaram a utilidade do método, o qual tem sido usado por vários pesquisadores para quantificar biofilmes e determinar a relação entre a formação do biofilme e a infecção do sangue^{1,2,11,25,49}. Entretanto, este procedimento não recupera os microrganismos da superfície interna do cateter e não é capaz de detectar mais do que 1000 unidades formadoras de colônias por ponta¹⁵. Vários métodos quantitativos^{26,41} têm sido usados para quantificar biofilme no segmento do cateter¹⁵,

Recebido em 01/09/2006

Aprovado em 19/03/2007

*Pesquisa realizada no Laboratório de Microbiologia da Coordenadoria de Análises Clínicas e Hemoterapia do Núcleo de Atendimento à Comunidade da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, campus de Araraquara-UNESP.

¹UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA-UNESP, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, campus de Araraquara, São Paulo, Brasil; ²New York University School of Medicine, Department of Pathology, New York, USA

como o método da centrifugação⁴; cultura em caldo ou *flus-hing* (lavagem)⁹, vortex e contagem de células viáveis⁵⁰, vórtex⁶, sonicação, vortex e contagem de células viáveis⁴⁴ e sonicação, vortex, homogeneização e contagem de células viáveis¹⁴. O procedimento mais usado para quantificar os biofilmes é da contagem de células viáveis, no qual as células do biofilme, dispersadas e ressuspensas são plaqueadas sobre meio de cultura sólido, incubadas e contadas¹⁵. Para a maioria destas técnicas, a determinação da eficiência do método (isto é, a percentagem de células que realmente foram recuperadas do biofilme) é necessária¹⁵. O método quantitativo simplificado descrito por Brun-Buisson *et al.*⁹ é uma modificação do método de Cleri *et al.*⁹ é usado para o diagnóstico de infecção relacionada ao cateter venoso central e apresenta sensibilidade de 97,5% e especificidade de 88,0%¹⁸. Este método permite o isolamento de microrganismos da superfície interna e externa do cateter e facilmente realizado na rotina laboratorial^{6,20,23}. As culturas qualitativa do sangue e quantitativa da ponta distal do cateter venoso central continuam como métodos de escolha para o diagnóstico de infecção relacionada ao cateter na maioria dos laboratórios. A chave principal neste diagnóstico é a confirmação exata da relação dos microrganismos isolados de ponta de cateter venoso central e da cultura de sangue⁵¹. O objetivo do presente estudo foi detectar microrganismos colonizando cateteres venosos centrais por meio de método quantitativo de cultura.

MATERIAIS E MÉTODOS

No período de janeiro de 2004 a janeiro de 2005 foram analisadas 118 pontas de cateteres venosos centrais do tipo Intra-Cath[®] de lúmen único, Vialon[®], 1,7mmx30,5cm, Becton-Dickson-BD e 42 amostras de sangue venoso de 100 pacientes adultos de ambos os sexos internados em Unidade de Terapia Intensiva. Dos cateteres removidos 5,0cm da porção distal (ponta) foi seccionada e colocada em um tubo tipo Falcon, com capacidade de 15,0ml e enviada ao Laboratório de Microbiologia para cultura. Com auxílio de uma tesoura e pinça esterilizada em bico de Bunsen, o segmento foi seccionado em um sub-segmento de 2,0cm e realizada a cultura quantitativa⁶. Esse método consiste na lavagem da superfície interna, da ponta do cateter, com 1,0ml de água Mili-Q esterilizada, com auxílio de uma pipeta tipo Pasteur, seguida de agitação em vórtex (PHOENIX[®] AP-56, Araraquara, SP) por 1 minuto a 3.500 rpm (rotações por minuto). Da diluição, 1/10 uma alíquota de 100µl foi retirada com uma pipeta automática (ICELL[®] - Cacil, Recife, Pernambuco) e transferida para uma placa de Petri (90x15mm) da marca PLEION[®] -Barueri, São Paulo, contendo 25,0ml de ágar sangue de carneiro a 5,0% e a semeadura foi realizada sobre toda a superfície do meio de cultura com auxílio de uma alça de Drigalski. A seguir incubada em estufa bacteriológica em aerobiose, a 36-37°C e examinada diariamente por até 72 horas. A contagem das unidades formadoras de colônias foi correlacionada com a diluição inicial (1/10). O resultado da cultura quantitativa é relatado como UFC/ml (unidades formadoras de colônias por ml) e o crescimento $\geq 10^3$ UFC/ml mostra colonização do cateter. A cultura de sangue foi realizada com 10,0 ml de sangue colhido de uma veia periférica, no momento da remoção do cateter e realizada em sistema Signal-OXOID[®]-England³⁶. Os microrganismos isolados de ponta de cateter e sangue foram identificados por metodologia padrão de acordo com Murray *et al.*³⁰ (2003) e pelos sistemas semi-automatizado BBL CRYSTAL Enteric/não fermentador (Becton Dickinson-BD) e ID API 20 Staphy (bioMerieux[®])

Após a identificação dos microrganismos foi realizado o teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de difusão em disco de acordo com o NCCLS-M2-A7-2000³¹. Os antimicrobianos utilizados foram de procedência CONCON[®] e a escolha de acordo com o NCCLS-M100-S12-2002³². A análise estatística foi calculada para valores de sensibilidade (S), especificidade (E), valores preditivos positivo (VPP), negativo (VPN), eficiência e prevalência como descrito por Fletcher *et al.*¹⁹ (2003).

RESULTADOS

As culturas de 118 pontas de cateter mostraram que em 34 (28,8%) o crescimento microbiano foi $\geq 10^3$ UFC/ml e em 84 (71,2%) foi observado crescimento microbiano $< 10^3$ UFC/ml. Trinta e quatro (28,8%) dos cateteres estavam colonizados e a infecção relacionada ao cateter foi encontrada em quatro (9,5%) cateteres. Cinquenta e dois microrganismos foram isolados como causa de colonização de cateter, incluindo 32 (61,6%) cocos Gram-positivos dos quais dois *Bacilo difteróide* (3,9%), dois *Enterococcus faecalis* (3,9%), três *Micrococcus sp.* (5,8%), 16 *Staphylococcus aureus* (30,7%); cinco *Staphylococcus epidermidis* (9,6%), dois *Staphylococcus haemolyticus* (3,9%), um *Staphylococcus hominis* (1,9%) e um *Staphylococcus xylosus* (1,9%). Dezenove (36,5%) bacilos Gram-negativos, dos quais cinco *Acinetobacter baumannii* (9,6%); um *Citrobacter freundii* (1,9%), quatro *Enterobacter aerogenes* (7,7%); um *Enterobacter agglomerans* (1,9%), um *Enterobacter cloacae* (1,9%), um *Escherichia coli* (1,9%), um *Flavimonas oryzae* (1,9%), três *Pseudomonas aeruginosa* (5,8%) e dois *Stenotrophomonas maltophilia* (3,9%). Leveduras quatro (7,3%) incluindo uma *Candida albicans* (1,9%). Quatro cepas de microrganismos foram isolados como causa de infecção relacionada ao cateter, incluindo dois *Staphylococcus aureus* (50,0%), um *Stenotrophomonas maltophilia* (25,0%) e um *Citrobacter freundii* (25,0%). Dos quatro casos de bacteriemia, a maioria dos microrganismos causadores de infecção eram cocos Gram-positivos e *Staphylococcus aureus* o microrganismo mais isolado, meticilina resistente.

Os resultados de 42 pontas de cateter analisadas em conjunto com 42 culturas de sangue mostram que em 16 (38,1%) o desenvolvimento de unidades formadoras de colônias foi $\geq 10^3$ UFC/ml e em 26 (61,9%) $< 10^3$ UFC/ml. Das 16 pontas de cateter com crescimento $\geq 10^3$ UFC/ml quatro (9,5%) evoluíram para bacteriemia. Das 26 pontas com crescimento $< 10^3$ UFC/ml nenhuma evoluiu para bacteriemia. A Tabela 1 mostra os resultados.

TABELA I
Comparação entre o método de quantitativo de cultura de cateter e bacteriemia relacionada ao cateter.

Método	Resultados	Bacteriemia relacionada ao cateter				TOTAL	
		SIM		NÃO		Nº	%
		Nº	%	Nº	%		
Quantitativo	$\geq 10^3$ UFC/ml	4	9,5	12	28,6	16	38,1
	$< 10^3$ UFC/ml	0	0	26	61,9	26	61,9
TOTAL		4	9,5	38	90,5	42	100,0

UFC= Unidades formadoras de colônias

O método quantitativo de cultura mostrou sensibilidade 100%, especificidade 68,4%, valor preditivo positivo (VPP) 25,0%, valor preditivo negativo (VPN) 100%, eficiência 71,4% e prevalência 9,5%.

O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos das cepas *Staphylococcus aureus* isoladas de pontas de cateter e sangue mostrou resistência de 100% aos aminoglicosídeo

(gentamicina), fenicol (cloranfenicol); fluorquinolonas (ciprofloxacina e levofloxacina), lincosamidas (clindamicina); macrolídeos (eritromicina); penicilinas (oxacilina e penicilina G); sulfanamidas (sulfazotrim); tetraciclina e 50% as ansaminas (rifampicina). Todas as cepas *Staphylococcus aureus* metilina resistentes foram sensíveis aos glicopeptídeos (teicoplanina e vancomicina).

DISCUSSÃO

As infecções associadas aos cateteres venosos centrais causam considerável morbidade e mortalidade em pacientes hospitalizados. Uma das dificuldades associadas com a infecção relacionada ao cateter é estabelecer o diagnóstico. Não existe uma correlação entre a clínica e o achado laboratorial e a interpretação do resultado microbiológico também é difícil, pois as culturas positivas podem mostrar que o cateter está contaminado ou colonizado. A evidência de que um cateter está associado a uma infecção é obtida quando o cateter é removido e a ponta distal é submetida a uma cultura. O isolamento de um mesmo microrganismo da ponta do cateter e do sangue indica uma infecção relacionada ao cateter¹⁷. Entretanto, existem muitos métodos disponíveis para cultura de ponta de cateter^{9,10,28,41,46}. Contudo, o padrão ouro é a cultura de ponta de cateter usando método quantitativo ou semi-quantitativo⁴³. Sherertz *et al.*⁴⁴ compararam três métodos de cultura de ponta de cateter, o de rolamento em placa, o de *flush* ou lavagem interna do cateter e o procedimento de sonicação do cateter. Observaram que a sensibilidade do método de sonicação foi de 80,0%; de rolamento do cateter sobre placa 60,0% e *flush* ou lavagem interna do lúmen 40,0% a 50,0%.

No presente estudo o método quantitativo apresentou sensibilidade 100% e quando comparado a outros, este resultado é consistente com aquele obtido por Cleri *et al.*⁹ 100%, Brun-Buisson *et al.*⁶ 100%, porém, inferior ao valor obtido por Bjornson *et al.*⁴ 80%. Em relação à especificidade 68,4%, o valor obtido no presente estudo foi mais baixo quando comparado a Cleri *et al.*⁹ 92%, Bjornson *et al.*⁴ 94% e Brun-Buisson *et al.*⁶ 94%. Quanto ao valor preditivo positivo (VPP) 25,0% foi inferior ao de Gutiérrez *et al.*²¹ 44,0%. No entanto, o valor preditivo negativo (VPN) 100,0% foi superior ao de Gutiérrez *et al.*²¹ 99,0%. Na presente pesquisa, observou-se que a eficiência do método 71,4% foi inferior a de Gutiérrez *et al.*²¹ 84,0%. Öncü *et al.*³⁴ relataram que o método quantitativo de cultura de ponta de cateter deveria ser o preferido, pois a técnica da cultura quantitativa incluindo os métodos de sonicação e vortex^{5,9,45} tem a vantagem de isolar microrganismos das superfícies interna e externa dos cateteres e possivelmente liberando os microrganismos embutidos dentro da camada do biofilme. Ainda, no presente estudo, a comparação entre a cultura de ponta de cateter usando método quantitativo e a cultura de sangue (Tabela 1) mostrou que 61,9% dos cateteres não apresentaram número significante de unidades formadoras de colônias e nem evoluíram para bacteriemia. Contudo, o número significante de unidades formadoras de colônias foi observado em 38,1% dos cateteres e somente 9,5% evoluíram para bacteriemia. Esses dados são consistentes com os estudos de Diener *et al.*¹³ e de Bach³, bacteriemia relacionada ao cateter varia de 3,0% a 10,0%. Também, semelhantes aos Aufwerber *et al.*² taxas de bacteriemia entre 3,8% a 12,0%. No entanto, Bullard e Dunn⁷ notificaram bacteriemia em 3,0% a 5,0% dos pacientes com cateteres venosos centrais e Collignon *et al.*¹⁰ 8,0%. Observou-se ainda na presente pesquisa, que os microrganismos isolados de cultura de

sangue de quatro pacientes cateterizados foram *S. aureus* (50%), *S. maltophilia* (25%) e *C. freundii* (25%), dados concordantes com Bullard e Dunn⁷ e não concordantes com Bouza *et al.*⁵ os quais relataram que os microrganismos mais isolados de infecção relacionada ao cateter eram *Staphylococcus coagulase-negativa* (30 a 40%), *S. aureus* (5 a 10%). Polderman e Girbes³⁹ e Fätkenheuer *et al.*¹⁸ relataram que os *Staphylococcus coagulase-negativa* eram os microrganismos mais frequentemente isolados de cultura de sangue. Bouza *et al.*⁵ notificaram que os cocos Gram-positivos, principalmente os *Staphylococcus coagulase-negativa* e *S. aureus* são responsáveis por pelo menos dois terços das infecções relacionadas ao cateter.

Ainda, no presente estudo, os microrganismos isolados de cateteres foram Gram-positivos e Gram-negativos enterobactérias ou não e leveduras. Dados consistentes com Donlan e Costertan¹⁵ e Pascual³⁷, os quais relataram que as espécies de microrganismos mais comumente isolados de biofilmes de cateteres são *S. epidermidis*, *S. aureus*, *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* e *E. faecalis*.

Na presente pesquisa, a frequência de isolamento de *Staphylococcus aureus* 27,3% foi menor do que a encontrada por Danese¹² 40%. Quanto ao perfil de sensibilidade dos microrganismos isolados de ponta de cateter e sangue, observou-se que 100% dos *S. aureus* eram metilina resistentes. Os dados são consistentes com a literatura de Pfaller *et al.*³⁸, os quais relataram que a resistência a oxacilina entre os estafilococos é muito mais observada em patógenos isolados de hospital. No entanto, as taxas são mais altas do que as notificadas pelo Programa de vigilância antimicrobiana SENTRY, nos Estados Unidos (26,2%) e no Canadá (2,7%) de *S. aureus* metilina resistentes. Ainda, na presente pesquisa, observou-se que os isolados de *S. aureus* eram multirresistentes, inclusive para gentamicina, fluorquinolonas e macrolídeos. Dado diferente do Programa de vigilância antimicrobiana SENTRY, do Canadá, em que os isolados de *S. aureus* eram sensíveis a gentamicina, fluorquinolonas e macrolídeos. Em outros estudos, como de Melo-Cristino²⁹, encontraram *S. aureus* metilina resistentes em 48,2% dos isolados. Entre os hospitais Europeus os *S. aureus* metilina resistentes foram encontrados em 28%. Observou-se, no presente estudo, que todas as cepas *S. aureus* metilina resistentes eram sensíveis aos glicopeptídeos. Os dados obtidos são consistentes com os de Öncü *et al.*³⁴, os quais relataram que os antibióticos glicopeptídeos são ativos contra *Staphylococcus* inclusive os metilina resistentes.

A presente pesquisa relatou os estudos desenvolvidos com cateter venoso central confeccionado em Vialon® e a quantificação de biofilme por cultura bacteriológica, usando técnica de Brun-Buisson *et al.*⁶ Os dados mostraram que 43,2% dos cateteres estudados foram colonizados por microrganismos, incluindo *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* e *E. coli*. Dados esses, similares aos encontrados por Maki e Ringer²⁷, os quais relataram o isolamento de *S. coagulase-negativa*, *S. aureus*, bacilos Gram-negativos e leveduras de cateter de Vialon. Lopez-Lopez *et al.*²⁴ e Polderman e Girbes³⁹ relataram que os cateteres disponíveis no mercado são feitos de silicone, poliuretano, tetrafluoretileno-hexafluorpropileno (FEP-Teflon) e o polieteruretano sem aditivos (PEU-Vialon) e que a natureza e a composição química do cateter é um fator de risco relacionado à infecção do cateter. Maki e Ringer²⁷ mostraram que o cateter de Vialon apresenta os mesmos riscos de infecção que os de Teflon. Fätkenheuer *et al.*¹⁸ relatam que quase todos os cateteres intravenosos são colonizados por microrganismos

mos. Lopez-Lopez *et al.*²⁴ avaliaram a aderência de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* e *E. coli* sobre superfícies de cateteres confeccionados em cloreto de polivinil (PVC), Teflon, latex siliconizado, poliuretano e Vialon. Os autores observaram que a aderência bacteriana foi significativamente maior para PVC e látex siliconizado do que para outros polímeros para todas as cepas. Os valores de aderência de *Staphylococcus* sobre poliuretano e Vialon foram mais baixos do que *E. coli* e *P. aeruginosa* sobre Teflon. Concluíram que a aderência bacteriana aos cateteres depende em parte da natureza química do cateter. A aderência do microrganismo a um material específico depende das propriedades físicas do cateter, como a qualidade da superfície. Depois que o microrganismo coloniza o cateter, prolifera formando biofilme e começa migrar. Os microrganismos podem disseminar-se da ponta do cateter para a corrente sanguínea por meio das infusões, manipulações e movimentos fisiológicos do cateter e, desta forma, causar infecção sistêmica, conforme relatado por Raad⁴⁰. Sadoyama e Gontijo Filho⁴², em um estudo usando cateter de Vialon, mostraram que entre 116 pacientes incluídos no estudo, mais da metade apresentaram no sítio de inserção do cateter um número bem alto de microrganismos (≥ 200 UFC/cm²) e 27% das pontas dos cateteres estavam contaminadas. A presente pesquisa mostra que 25,4% dos pacientes apresentaram infecção no local de inserção do cateter e 42,4% estavam colonizados. Ainda, no presente estudo, os dados mostraram que 41,2% das culturas eram polimicrobianas e 58,8% monobacterianas, dados diferentes dos obtidos por Cercenado *et al.*⁸: monomicrobianas (83,0%) e polimicrobianas (17,0%). Observou-se no presente estudo que o microrganismo líder que colonizou o cateter venoso central e causou infecção relacionada ao cateter foi *S. aureus*, seguido de *S. epidermidis*. O achado de que o *Staphylococcus* spp. foi o isolado mais comum da ponta de cateter positiva parece suportar a atual visão de que a infecção origina-se tanto da pele do próprio paciente, como do pessoal médico ou da colonização da conexão do cateter.

CONCLUSÃO

A detecção do biofilme foi evidenciada pelo método quantitativo de cultura de ponta de cateter e o biofilme influenciou na infecção relacionada ao cateter.

AGRADECIMENTOS

A Coordenadoria de Análises Clínicas e Hemoterapia do Núcleo de Atendimento à Comunidade da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, campus de Araraquara-UNESP, pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Anaissie, E.; Samonis, G.; Kontoyiannis, D.; Costerton, J.; Sabharwal, U.; Bodey, G.; Raad, I. 1995. Role of catheter colonization and infrequent hematogenous seeding in catheter-related infections. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 14: 135-137.
- Aufwerber, R.; Ringertz, S.; Ransjö, U. 1991 Routine semiquantitative cultures and central venous catheter-related bacteremia. *APMS*, 99: 627-630.
- Bach, A. 1999. Prevention of infections caused by central venous catheters – established and novel measures. *Infection*, 27:11-15.
- Bjornson, H. S.; Colley, R.; Bower, R. H.; Dutry, V. P.; Schwartz-Fulton, J. T.; Fischer, J. E. 1982. Association between microorganism growth at the catheter insertion site and colonization of the catheter in patients receiving total parenteral nutrition. *Surgery*, 92: 720-727.
- Bouza, E.; Burilho, A.; Muñoz, P. 2002. Catheter-related infections: diagnosis and intravascular treatment. *Clin. Microbiol. Infect.*, 8:265-274.
- Brun-Buisson, C.; Abrouk, F.; Legrand, P.; Huet, Y.; Larabi, S.; Rapin, M. 1987. Diagnosis of central venous catheter catheter-related sepsis – critical level of quantitative tip cultures. *Arch. Intern. Med.*, 147: 873-877.
- Bullard, K. M.; Dunn, D. L. 1996. Diagnosis and treatment of bacteremia and intravascular catheters infections. *Am. J. Surg.*, 172:13-19.
- Cercenado, E.; Ena, J.; Rodríguez-Créixens, M.; Romero, I.; Bouza, E. 1990. A conservative procedure for the diagnosis of catheter-related infections. *Arch. Intern. Med.*, 150:1417-1420.
- Cleri, D.J.; Corrado, M. L.; Seligman, S. J. 1980. Quantitative culture of intravenous catheters and other intravascular inserts. *J. Infect. Dis.*, 141:781-786.
- Collignon, P.J.; Soni, N.; Pearson, I.Y.; Woods, W.P.; Munro, R. Sorrel, T. C. 1986. Is semiquantitative culture of central vein catheter tips useful in the diagnosis of catheter-associated bacteremia? *J. Clin. Microbiol.*, 24:532-535.
- Corona, M.L.; Peters, S.G.; Narr, B.J.; Thompson, R.L. 1990. Subspecialty clinics: critical care medicine. Infections related to central venous catheters. *Mayo Clin. Proc.*, 65: 979-986.
- Danese, P. N. 2002. Antibiofilm approaches: prevention of catheter colonization. *Chem. Biol.*, 9: 873-880.
- Diener, J. R. C.; Countinho, M. S. S. A.; Zoccoli, C. M. 1996. Infecções relacionadas ao cateter venoso central em terapia intensiva. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, 42:205-215.
- Donlan, R.M.; Murga, R.; Bell, M.; Toscano, C.M.; Carr, J.H.; Novicki, T.J.; Zuckerman, C.; Corey, L.C.; Miller, J.M. 2001. Protocol for the detection of biofilms on needleless connectors attached to central venous catheters. *J. Clin. Microbiol.* 39: 750-753.
- Donlan, R. M.; Costerton, W. 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.*, 15: 167- 193.
- Druskin, M. S.; Siegel, P. D. 1963. Bacterial contamination of indwelling intravenous polyethylene catheters. *JAMA*, 185: 966-968.
- Elliott, T. S. J.; Tebbs, S. E.; Moss, H. A.; Worthington, T.; Spare, M. K.; Faroqu, M. H.; Lambert, P. A. 2000. A novel serological test for the diagnosis of central venous catheter-associated sepsis. *J. Infect.*, 40: 262-266
- Fätkenheuer, G.; Buchheidt, D.; Cornely, O. A.; Fuhr, H-G; Karthaus, M.; Kissero, J.; Leithäuser, M.; Salwender, H.; Südhoff, T.; Szélenyi, H.; Weissinger, F. 2003. Central venous catheter-related infections in neutropenic patients. *Ann. Hematol.*, 82: 149-157.
- Fletcher, R. H.; Fletcher, S. W.; Wagner, E. H. 2003. *Epidemiologia clínica: elementos essenciais*. 3 ed. Porto Alegre. Artmed 281p.
- García C., P.; Payá G., E.; Olivares C., R.; Cotera F., A.; Rodríguez T., J.; Sanz R., M. 2003. Diagnóstico de las infecciones asociadas a catéteres vasculares centrales. *Rev. Chil. Infect.*, 20: 41-50.
- Gutiérrez, J.; Leon, C.; Matamouros, R.; Nogales, C.; Martín, E. 1992. Catheter-related bacteremia and fungemia. Reliability of two methods for catheter culture. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 15: 575-578.
- Jansen, B. 1997. Current approaches to the prevention of catheter-related infections. In: Seifer, H.; Jansen, B.; Farr, B. M. Eds. *Catheter related infections*, New York Marcel Dekker Inc. p. 411-446.
- Longuet, P. 2003. Diagnosis and management of long-term central venous catheter-related infections. *Med. Mal. Infect.*, 33: 613-618.
- López-López, G.; Pascual, A.; Perea, E. J. 1991. Effect of plastic catheter material on bacterial adherence and viability. *J. Med. Microbiol.*, 9: 324-328.
- Maki, D.G.; Stolz, S.M.; Wheeler, S.; Mermel, L.A. 1997. Prevention of central venous catheter-related bloodstream infection by use of an antiseptic-impregnated catheter. A randomized, controlled trial. *Ann. Intern. Med.*, 127: 257-266.
- Maki, D. G.; Mermel, L. A. Infections due to infusion therapy. In: Bennett, J. V.; Brachman, P. S. eds. *Hospital infections*. Lippincott-Raven. 1988: p. 689-723.
- Maki, D. G.; Ringer, M. 1991. Risk factors for infusion-related phlebitis with small peripheral venous catheters. *Ann. Intern. Med.*, 114: 845-854.
- Maki, D. G.; Weise, C. E.; Sarafin, H. W. 1977. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N. Engl. J. Med.*, 296:1305-1309.

PRÊMIO CFF

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

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

II - DOS OBJETIVOS

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

III - DA PARTICIPAÇÃO

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

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

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

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

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

Rio de Janeiro, 30 de dezembro de 2004.

Dr. Ulisses Tuma
Presidente

Informações:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio CFF

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

Avaliação do ertapenem frente a bacilos gram negativos produtores de enzima beta lactamase de espectro expandido (ESBL)*

Evaluation of the ertapenem front to negative bacilli gram enzyme producers beta lactamase of expanded specter (ESBL)

Everardo Albuquerque Menezes¹, Érica Gonçalves Barreto Alves¹, Francisco Afrânio Cunha¹, Maria Rozellê Ferreira Ângelo², Maria Núbia Cavalcante Salviano² & Inácio Regis Nascimento Oliveira²

RESUMO - A resistência bacteriana aos agentes antimicrobianos se tornou uma séria ameaça à saúde pública em todo o mundo, transformando-se em um problema crescente tanto nos ambientes hospitalares quanto na vida diária das comunidades. A busca de novas substâncias capazes de reduzir a atuação e a disseminação dessas bactérias resistentes se tornou um objetivo importante a ser alcançado, notadamente no que diz respeito aos bacilos Gram negativos produtores de enzima β -lactamase de espectro expandido (ESBL), principalmente no caso de *Klebsiella* e *Escherichia coli*, que apresentam uma crescente resistência aos agentes β -lactâmicos de amplo espectro. O ertapenem se apresenta hoje como uma das novas alternativas para o tratamento de infecções causadas por estas bactérias. Este trabalho tem como objetivo verificar a eficácia do tratamento antimicrobiano com o Ertapenem, nas infecções causadas por ESBL. Os resultados obtidos apontam para a comprovação de sua eficácia, visto que de 50 amostras testadas, de bacilos Gram negativos, comprovadamente ESBL, 48 se mostraram realmente eficientes, eliminando ou impedindo a proliferação de bactérias. Podemos concluir que o Ertapenem sódico realmente atua de forma eficaz no tratamento das infecções causadas por Bactérias comprovadamente produtoras de ESBL.

PALAVRAS-CHAVE - Resistência bacteriana. Ertapenem. ESBLs.

SUMMARY - bacterial resistance to agent antimicrobials if became a serious threat public health in the whole world, changedding it self into an increasing problem in such a way in hospital environments how much in the daily life of the communities. The search of new substances capable to reduce the performance and the dissemination of these resistant bacteria if became an objective important to be reached, mainly in that it says respect to the producing negative enzyme Gram bacilli lactamase of expanded specter (ESBL), mainly in the case of *Klebsiella* e *Escherichia coli*, that they present an increasing resistance to agents β -lactâmicos of ample specter. The ertapenem if presents today as one of the new alternatives for the treatment of caused infections for these bacteria. This work has as objective to verify the effectiveness of treatment antimicrobials with the Ertapenem, in the infections caused for ESBL. Gotten results point with respect to the evidence of its effectiveness, since of 50 tested samples, of negative Gram bacilli, confirmly ESBL, 48 if they had shown really efficient, eliminating or hindering the proliferation of bacteria. We can conclude that the sódico Ertapenem really acts of form efficient in the treatment of the infections caused for Bacteria confirmly ESBL producers.

KEYWORDS - Bacterial resistance. Ertapenem. ESBLs.

INTRODUÇÃO

A resistência aos β lactâmicos é reconhecidamente um problema mundial, entretanto, a avaliação do problema carece de dados mais precisos para se determinar sua real extensão, principalmente nos países em desenvolvimento. A grande maioria dos dados disponíveis sobre o assunto provém de países desenvolvidos, onde as condições de atendimento são bastante diferentes das encontradas nos países em desenvolvimento, como o Brasil¹.

Esse problema vem se agravando ao longo dos anos, sendo que apenas na última década o número de β -lactamases conhecidas dobrou. A rapidez com que os bacilos Gram negativos desenvolvem resistência aos agentes antimicrobianos, notadamente às cefalosporinas de terceira e quarta geração demonstram a capacidade de adaptação e de disseminação desses microrganismos, o que coloca em risco os tratamentos convencionais dirigidos a essas infecções¹. As β -lactamases são enzimas que catalisam a hidrólise do anel β -lactâmico, impossibilitando assim a sua atividade antimicrobiana. A produção de β -lactamases é o principal mecanismo de resistência das bactérias Gram negativas. O grau de resistência ao β -lactâmico irá depender da quantidade de enzima produzida, da habilidade dessa enzima em

hidrolisar o antimicrobiano em questão e da velocidade com que o β -lactâmico penetra pela membrana externa da bactéria (permeabilidade da membrana)².

As enterobactérias são uma família de bacilos Gram negativos, com muitas propriedades em comum. Embora possam ser encontradas amplamente na natureza, a maioria habita os intestinos do homem e dos animais, seja como membros da microbiota normal ou como agentes de infecção³.

Atualmente, as enterobactérias são os microrganismos mais freqüentemente isolados de processos infecciosos, representando em torno de 70 a 80% das amostras de microrganismos Gram negativos isolados em rotina de laboratório. A freqüência dos diferentes gêneros e espécies é fortemente influenciada pelo local onde a infecção foi adquirida, isto é, se na comunidade ou no hospital⁴.

Um dos problemas causados por essas enzimas é decorrente do fato de sua produção ser inibida durante a terapêutica antimicrobiana. Dessa maneira, quando a amostra bacteriana é detectada pelo laboratório de microbiologia ela é aparentemente sensível às cefalosporinas de terceira e quarta geração e penicilinas de amplo espectro⁵. Porém durante o tratamento ocorre indução da produção de grandes quantidades de enzimas e o paciente começa a evoluir mal com recidiva na infecção. Uma nova amostra da bactéria é isolada e esta poderá se mostrar resistente a um an-

Recebido em 13/04/2006
Aprovado em 26/07/2007

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

¹Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará

²Hospital Geral de Fortaleza.

timicrobiano para o qual a bactéria era inicialmente sensível, podendo até ser interpretado como erro laboratorial quando da avaliação da primeira amostra⁶.

As β -lactamases de espectro expandido (ESBLs) resultam de mutações das enzimas clássicas (TEM-1 e SHV-1), e são provenientes de pressão seletiva em ambientes onde há utilização abusiva de antimicrobiano de amplo espectro, como cefalosporinas de terceira e quarta geração. Devido ao fato da maioria das ESBLs serem codificadas por genes localizados em plasmídeos, que, geralmente, carregam genes de resistência a outros antimicrobianos, tais como aminoglicosídeos e outras classes de drogas, as cepas produtoras dessas enzimas são na maioria dos casos multiresistentes⁷.

As enterobactérias produtoras de ESBLs tem sido isoladas com maior frequência em amostras procedentes de pacientes hospitalizados, porém também podem ser encontradas em amostras de origem comunitária. Estes isolamentos podem aparecer de forma esporádica, sem relação epidemiológica, ou dar lugar a surtos nosocomiais. A maioria dessas epidemias afetam poucos pacientes em um período curto de tempo. Entretanto, cada vez é mais frequente a descrição de surtos nosocomiais⁸.

O Ertapenem é ativo *in vitro* contra um amplo espectro de bactérias Gram positivas e Gram negativas, aeróbias e anaeróbias. A atividade bactericida do Ertapenem resulta da inibição da síntese da parede celular e é mediada pela ligação do Ertapenem às proteínas ligadoras de Penicilina (PBPs)⁹.

O Ertapenem se apresenta como o mais recente antimicrobiano capaz de eliminar as cepas produtoras de ESBLs, sendo indicado nos casos onde o tratamento com cefalosporinas de terceira e quarta gerações não obteve resultados satisfatórios. Também pode ser utilizado como alternativa ao uso dos carbapenêmicos, pois sua condição de uso em dose única e a diminuição dos efeitos colaterais facilita a recuperação do paciente⁹.

Contudo é importante verificar a verdadeira eficácia do medicamento, visto que as informações disponíveis ainda são poucas e necessitam de uma comprovação efetiva antes de sua aceitação irrestrita nesses tratamentos. De acordo com o que foi dito o nosso objetivo foi avaliar a eficácia do Ertapenem no combate a bacilos Gram negativos produtores de ESBLs.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Patologia Clínica no setor de bacteriologia do Hospital Geral de Fortaleza (HGF). Foram utilizadas 50 bactérias isoladas de vários locais anatômicos: sangue, urina e secreções. Foi feita a triagem das cepas de ESBLs após identificação presuntiva no aparelho de automação Walk Way – Microscan.

As amostras foram reisoladas com salina e semeadas no ágar MacConkey e incubadas em estufa à 35°C por 24 horas.

Após o reisolamento foi realizado o Teste de Susceptibilidade a antimicrobianos (TSA) pelo método de difusão com discos segundo a técnica de Kirby-Bauer¹⁰ e do CLSI¹¹ no ágar Mueller Hinton, incubados à 35°C por 24 horas. Os discos usados foram do fabricante Oxoid e foram os seguintes: CAZ – Ceftazidima. CD – ceftazidima + ácido clavulânico. ETP – Ertapenem.

Após 24 horas de incubação foram medidos os halos dos discos, se a diferença do CAZ e do CD for maior ou igual a 5 mm, o resultado é ESBL positivo. A bactéria testada é considerada susceptível ao ETP quando o halo for maior ou igual a 16 mm.

RESULTADOS

Foi realizado o TSA de 50 bactérias, todas eram enterobactérias produtoras de ESBL, segundo o aparelho de automação Microscan. Foram distribuídas assim as bactérias: 04 *Escherichia coli* e 46 *Klebsiella pneumoniae*. Estas bactérias foram isoladas principalmente a partir de secreções (7), hemoculturas (14) e urinoculturas (29).

Os setores onde tiveram maior prevalência de enterobactérias produtoras de ESBL foram a Clínica Médica e a Unidade de Terapia Intensiva de acordo com a tabela 1.

As 50 bactérias utilizadas no TSA foram produtoras de ESBL, confirmando o aparelho de automação Microscan, isto é, a diferença dos halos foi maior ou igual a 5 mm.

O Ertapenem mostrou-se eficaz em 48 amostras (96%), comprovando sua ação no combate às infecções causadas por ESBL. As duas amostras que apresentaram resistência ao Ertapenem foram infecções do tipo hospitalar, uma amostra era de urinocultura da Pediatria e a outra de secreção (líquido da cavidade abdominal) proveniente da Clínica Médica.

TABELA I

Origem das bactérias ESBL no Hospital Geral de Fortaleza

Origem das amostras	Número de Bactérias
Clínica	19
Médica	12
UTI	04
UTI semi intensiva	04
Neonatologia	04
Transplante Renal	04
Pediatria	03
Cirurgia	02
Neurologia	01
Urologia	01

DISCUSSÃO

Neste trabalho foram selecionadas 50 bactérias Gram negativas, após identificação no aparelho de automação Microscan, como sendo cepas suspeitas de ESBL, foi realizado teste de confirmação através do teste de adição de ácido clavulânico ao disco de ceftazidima pelo método de difusão com discos, todas as bactérias foram identificadas como sendo produtoras de ESBL. Na avaliação da eficácia do Ertapenem frente às bactérias Gram negativas produtoras de ESBL, este se mostrou eficaz em 48 bactérias (96%), resultado considerado satisfatório.

A detecção de ESBLs em isolados de bactérias Gram negativas é problemática devido a sua variabilidade fenotípica, os testes de susceptibilidade utilizados rotineiramente podem classificar essas amostras bacterianas como sensíveis aos antimicrobianos. Alguns métodos têm sido propostos e se baseiam na comparação de sensibilidade da amostra ao betalactâmico sozinho e quando esse é associado a inibidores ao betalactamases. O aumento da sensibilidade quando o inibidor de betalactamase é associado ao betalactâmico indica produção de ESBL¹².

As ESBLs resultam de mutações das enzimas clássicas (TEM-1 e SHV-1), e são provenientes de pressão seletiva em ambientes onde há utilização abusiva de antimicrobia-

nos de amplo espectro como cefalosporinas de terceira e quarta geração. Devido ao fato da maioria das ESBLs serem codificadas por genes localizados em plasmídeos, que, geralmente, carregam genes de resistência a outros antimicrobianos, tais como aminoglicosídeos e outras classes de drogas, as cepas produtoras dessas enzimas são na maioria dos casos de multiresistentes⁷.

O aumento da resistência aos antimicrobianos β -lactâmicos tem sido associado, em grande parte, à disseminação das ESBL. Além de gerar dados incorretos de prevalência, a ausência de detecção dessas enzimas nas amostras leva à utilização de uma terapêutica incorreta, acarretando graves consequências para a vida do paciente. A resistência bacteriana decorrente da produção de ESBL pode também ser induzida durante a terapêutica, criando-se um problema que independe do procedimento laboratorial adotado anteriormente.

A prevalência de cepas produtoras de ESBL tende a crescer porque a resistência bacteriana é inevitável e as bactérias produtoras de β -lactamases de espectro ampliado são especialmente problemáticas. Cada hospital deve conhecer a sua prevalência. Em geral, essas bactérias surgem em unidades de terapia intensiva, seja neonatal, adulta ou pediátrica. São locais onde são medicados com antibióticos e há pressão seletiva para o aparecimento de bactérias produtoras de β -lactamases. Esses pacientes estão gravemente doentes e em contato com outros, o que pode levar a infecção cruzada com frequência razoável nessas unidades, além do fato de poderem adoecer por estes agentes em razão do uso muito freqüente de cateteres e sondas de cavidades e tecidos naturalmente estéreis¹.

De grande importância é o trabalho dos profissionais responsáveis pela prescrição de antimicrobianos, que sempre tem de pesquisar estratégias para o uso dos antimicrobianos que considerem a presença preponderante de amostras produtoras de ESBL, que uma vez confirmada exigem uma postura terapêutica específica⁷.

A maior incidência de produção de ESBL por *Escherichia coli* foi registrada na América Latina, onde cerca de 10% dos 2.665 isolados coletados eram produtores. Incidências de quase 10% foram detectadas nos 1.067 isolados obtidos na Ásia, na região do Pacífico. Ao contrário, as incidências foram baixas na América do Norte (cerca de 2% nos 7.616 isolados) e na Europa (3-5% nos 4.413 isolados). Como seria esperado de acordo com estudos de vigilância anteriores, a produção de ESBL foi mais prevalente entre cepas de *Klebsiella*. Novamente a proporção de isolados ESBL positivos foi mais alta na América Latina (cerca de 40%) e mais baixa na América do Norte (cerca de 8%). Na Europa, em 1999, 30% dos isolados eram ESBL positivos, assim como 24% das cepas isoladas na Ásia. Foram detectadas diferenças marcantes de incidências em países diversos em uma mesma região. Cepas positivas de *Escherichia coli* mostraram-se mais prevalentes na China, mas as positivas de *Klebsiella pneumoniae* foram isoladas com maior frequência em Cingapura e nas Filipinas, onde as incidências revelaram-se similares às registradas na América Latina¹⁴. Para avaliar a prevalência de ESBL produzidas por espécies de Enterobactérias, o teste TSA foi utilizado com cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Salmonella* spp, que foram isoladas como parte do Projeto SENTRY (projeto dos Estados Unidos para combater a Infecção Hospitalar). A alta porcentagem do fenótipo de ESBL (definida como MIC > 2mg/mL para ceftazidima, ceftriaxona ou aztreonam) foi detectada junto à cepas de *K. pneumoniae* da América Latina (45%), seguidas daqueles da Região Oeste do Pacífico (25%), Europa (23%), Estados

Unidos (8%) e Canadá (5%). As cepas de *P. mirabilis* e *E. coli* em que MICs de cefalosporinas de espectro estendido ou monobactâmicos eram elevados também eram mais proeminentes na América Latina. Testes com ceftazidima revelaram mais isolados com MICs elevados do que testes com ceftriaxona ou aztreonam. Cepas de ESBL mostraram altos níveis de resistência aos aminoglicosídeos, tetraciclina, trimetoprima-sulfametaxazol e ciprofloxacim. O Imipenem mantém ação efetiva contra cepas ESBL¹⁵.

Bactérias que apresentam expressão de ESBL estão largamente distribuídas em todo o mundo, ainda que as taxas de prevalência sejam significativamente maiores em certas regiões¹⁵.

CONCLUSÃO

O Ertapenem surge como uma alternativa terapêutica às infecções causadas por bactérias produtoras de ESBL. Os carbapenêmicos atualmente utilizados (imipenem e meropenem) apresentam efeitos colaterais mais severos, custo mais elevado e tratamento mais dispendioso, uma vez que sua posologia não é em dose única sendo necessário muitas vezes a associação com outros antimicrobianos, o que favorece o aumento da resistência bacteriana.

A proposta deste estudo foi de testar a ação do Ertapenem em bactérias produtoras de ESBL. Das 50 amostras isoladas e identificadas como ESBL, o Ertapenem conseguiu inibir o crescimento bacteriano em 48 amostras, o que correspondeu a 96%, índice considerado satisfatório em estudos laboratoriais.

REFERÊNCIAS

1. AMARANTE, J.M.B. Prevalência de ESBL pode chegar até 100% das bactérias isoladas em hospitais. Fato Hospitalar, ano III, 7:4-6, 2002.
2. DADE BEHRING LTDA. β -Lactamases de Espectro Estendido (ESBL). Folheto informativo avulso. São Paulo, 2004
3. KONEMAN, E. W.; ALLEN S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN JR, W. C. Diagnóstico Microbiológico, São Paulo; 5ª Edição, 2001
4. TAVARES, W. Manual de Antibióticos, Quimioterápicos e Anti-infecciosos. Editora Ateneu, 2002.
5. MURRAY, P.R.; DREW, W.L.; KOBAYASHI, G.S.; THOMPSON Jr., J.H. Microbiologia Médica. Rio de Janeiro – RJ. Editora Guanabara Koogan S.A., 2000.
6. SILVA, C.H.P.M. & SALVINO, C.R. Importância do reconhecimento das Enterobactérias Hospitalares Produtoras de β -Lactamases de Espectro Ampliado (ESBL) e suas implicações terapêuticas. NewsLab 41:104-112, 2000
7. HONÓRIO, L.C. et al. Análise do perfil de resistência de enterobactérias produtoras de β -Lactamases de espectro ampliado (ESBL) isoladas em João Pessoa – PB. Revista Brasileira de Análises Clínicas. 33(4):179-183, 2001.
8. INFORMAÇÕES TÉCNICAS SOBRE O ERTAPENEM SÓDICO INVAZ MSD – capturado do site www.invanz.com.br. Acesso em 05/08/2004.
9. O PAPEL DO ERTAPENEM NA PRÁTICA CLÍNICA – programa de Educação Médica continuada – capturado do site www.msdd-brazil.com. Acesso em 24/03/2006.
10. CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests (approved Standard M2-A4). Villanova, PA, National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1984.
11. CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests for bacteria (approved standard no157). Villanova PA. NCCLS, 1988.
12. BLATT, J.M. Mecanismo de resistência e Detecção das Betalactamases de espectro Ampliado. NewsLab 40:86-96, 2000
13. SANTOS, R.C.V. Prevalência de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca* Produtoras de ESBL em pacientes do Hospital Divina Providência, Porto Alegre – RS. Revista Brasileira de Análises Clínicas. 35:55-57, 2003.
14. SILVA, C.H.P.M. β -lactamase de espectro estendido: definições, importância clínica e detecção laboratorial. Revista Brasileira de Análises Clínicas. 33:215-219, 2000.
15. WINOKUR, P.L. et al. Variations in the Prevalence of Strains Expressing an ESBL phenotype and Characterization of isolates from Europe the Americas and the western Pacific region. Journal of Clinical Microbiology. 41:321-330, 2003.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Everardo Albuquerque Menezes
Rua Juazeiro do Norte, 199/302, Meireles
CEP: 60165-110 Fortaleza - 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 (uniterms) 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

Espécies fúngicas isoladas a partir de unhas de manipuladores de alimentos*

Fungal species isolated from food manipulators`nails

Kedma de Magalhães Lima¹, Rossana Sette de Melo Rêgo² & Francisco Montenegro³

RESUMO - Doenças veiculadas por alimentos representam um importante problema de saúde pública, acometendo principalmente crianças, idosos e imunocomprometidos. Embora a contaminação alimentar possa ter várias origens, a inadequada manipulação dos alimentos durante seu processamento e distribuição é uma das principais causas de disseminação destas enfermidades. Infecções fúngicas ungueais podem favorecer a instalação de bactérias responsáveis por intoxicações alimentares. Objetivamos demonstrar espécies fúngicas isoladas em unhas de 50 manipuladores de alimentos com idades entre 20-50 anos. Foram realizados exames diretos com KOH 30% e culturas em Sabouraud-cloranfenicol. Leveduras foram identificadas em CHROMagar® *Candida*, microcultivos em lâmina e provas bioquímicas. Houve isolamento de *Candida* sp. a partir de 30 amostras, sendo *C. parapsilosis* em 33.3%, *C. albicans* em 13.3%, *C. tropicalis* em 13.3%, *C. glabrata* em 13.3%, *C. pulcherrima* em 6.6%, *C. famata* em 3.3% e *C. guilliermondii* em 3.3% dos casos. Em 14% dos casos positivos ao exame direto, não houve crescimento de colônias de leveduras em cultura. Não foram observados fungos filamentosos. É importante a identificação de agentes causadores de onicomicoses em unhas de manipuladores, visando a diminuição de infecções propagadas por alimentos contaminados, contribuindo com ações de vigilância sanitária.

PALAVRAS-CHAVE - *Candida parapsilosis*, Alimentos, Infecções alimentares.

SUMMARY - Diseases propagated by foods are an important problem of public health mainly in children, old-aged and immunocompromised individuals. Although the contamination of foods may have different origins, the inadequate manipulation during its processing and distribution is one of the main causes of dissemination of diseases. Nail fungus infection can contribute for installation of bacteria that may cause alimentary intoxication. The aim of this study was to demonstrate the fungal species found in nails of 50 food manipulators between 20 to 50 years old. We made KOH direct microscopy examination and culture on Sabouraud-cloranfenicol. Yeasts were identified in CHROMagar® *Candida*, microculture in glass lamina and biochemical tests. *Candida* sp was isolated from 30 samples. *C. parapsilosis* 33.3%, *C. albicans* 13.3%, *C. tropicalis* 13.3%, *C. glabrata* 13.3%, *C. pulcherrima* 6.6%, *C. famata* 3.3% and *C. guilliermondii* 3.3%. There was no growth of yeasts in 14% of the cases, besides a positive direct examination. Therefore, the identification of pathogenic agents from nails of food manipulators is important to reduced infections due to contaminated foods, contributing to Sanitary Vigilance.

KEYWORDS - *Candida parapsilosis*, Foods, Yeasts, Alimentary infections.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, tem-se observado um aumento das doenças transmitidas por alimentos, relacionado a diversos fatores, tais como expansão do comércio alimentar, aumento do consumo de alimentos industrializados ou semi-prontos, modificações dos hábitos alimentares e refeições fora do domicílio. As fontes de contaminação desses alimentos pode ser o solo, a água, as plantas, a pele dos animais, o ar, a poeira e os utensílios que devem passar por uma higienização adequada para evitar a contaminação cruzada. Entretanto, os principais responsáveis por contaminação alimentar, e consequentemente, infecções, são os agentes biológicos, representados em sua maioria por bactérias e parasitos intestinais (Notermans & Verdegaal, 1992).

A pele apresenta uma população de microrganismos que constitui a flora residente e a transitória. A flora residente, representada por microrganismos não patogênicos ou oportunistas, multiplica-se persistindo sobre a pele. Já a transitória é constituída por microrganismos depositados sobre a pele sem que ocorra colonização, sendo responsável por transportar patógenos em serviços hospitalares e de alimentação coletiva, por meio de mãos contaminadas (Almeida *et al.*, 1995; Passos *et al.*, 2000).

Os serviços de alimentação coletiva vêm aumentando cada vez mais em todo o mundo, inclusive no Brasil, e os profissionais pertencentes a estes serviços desempenham uma

função importante na preservação da higiene dos mesmos (Silva *et al.*, 2005). De acordo com a inspeção sanitária de alimentos, é considerado manipulador qualquer pessoa que esteja em contato direto ou indireto com os alimentos. As patologias fúngicas ungueais (onicomicoses) constituem uma das principais causas de enfermidades ao nível mundial, tendo aumentado sua ocorrência nos últimos anos. Geralmente estão relacionadas a condições sócio-econômicas e sanitárias, baixa higiene, idade, sexo, ocupação e profissão, como mulheres que mantêm as mãos em contato permanente com água (cozinheiras e lavadeiras) e homens que desempenham atividades como copeiros, jardineiros, manipuladores de frutas e operários de curtume (Esteves *et al.*, 1992; Araújo *et al.*, 2003).

Essa micose superficial torna-se relevante, em vista da alta frequência com que ocorre na população, além da interferência na qualidade de vida das pessoas, prejudicando o desempenho profissional e contribuindo como porta de entrada para outros microrganismos, principalmente bactérias que poderão contaminar os alimentos (Sabioni, Hirooka & Souza, 1998; Ribeiro *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2005). Portanto, é essencial identificar os principais agentes etiológicos envolvidos em micoses ungueais de profissionais de serviços de alimentação, não só pelas condições de saúde e higiene do trabalhador como também, salientar que a presença de fungos em suas unhas pode possibilitar infecções secundárias por bactérias produtoras de intoxicações alimentares.

Recebido em 28/02/2007

Aprovado em 10/07/2007

*Trabalho desenvolvido no Setor de Micologia da NKB-Diagnósticos, Recife-PE.

¹Mestranda em Medicina tropical, UFPE; ²Supervisora do Setor de Micologia da NKB-Diagnósticos/PE; ³Gestor Técnico da NKB-Diagnósticos/PE e Professor da Universidade de Pernambuco.

MATERIAIS E MÉTODOS

População estudada

Participaram do estudo 50 trabalhadores que manipulam direta ou indiretamente alimentos, como garçons, confeiteiros, doceiros, padeiros, açougueiros, cozinheiros e ajudantes de cozinha.

Os profissionais foram encaminhados por médicos do trabalho para pesquisa micológica das unhas das mãos em laboratório privado de Recife – PE, no período de Agosto a Outubro de 2006.

Coleta Micológica

Foram colhidas escamas de unhas, raspadas com bisturi ou com auxílio de uma tesoura. Quando foi observado comprometimento subungueal, o material foi retirado entre o limite da unha normal e da unha afetada.

Procedimentos das amostras

O exame direto das amostras clínicas foi realizado após a clarificação com KOH a 30%, e o cultivo pelo semeio em superfície de placas de Petri contendo Agar Sabouraud com cloranfenicol (50 mg/l) e Mycosel®, evitando, assim, o crescimento de fungos filamentosos contaminantes neste meio.

As culturas foram mantidas à temperatura ambiente por 20 dias, e, quando observado crescimento fúngico, foram realizadas suspensões das colônias em água destilada com cloranfenicol (50 mg/l), visando obtenção de colônias purificadas para estudos posteriores.

A identificação do agente etiológico foi baseada no estudo de suas características morfológicas em ágar fubá acrescido de tween 80, pela técnica do microcultivo em lâmina, produção de tubo germinativo a 37°C em soro humano e provas bioquímicas convencionais, como fermentação e assimilação de carboidratos. Além disso, foi utilizado meio cromogênico (CHROMagar® *Candida*) para identificar presuntivamente *C. albicans*, *C. krusei*, *C. dubliniensis* e *C. tropicalis*.

RESULTADOS

Dos 50 profissionais analisados, 38 pertenciam ao sexo masculino e 12 ao sexo feminino, com idades entre 20 e 50 anos. A presença de colonização, sintomática ou não, foi constatada em 30 (60%) das amostras ungueais, sendo 24 oriundas de unhas masculinas e 6 de unhas femininas (Figuras 1a e 1b). Ao exame direto, essas amostras apresentaram células de leveduras arredondadas, hialinas, blastosporadas e isoladas (Figura 2). Além disto, foi observada a presença de numerosas bactérias, diferentemente das amostras negativas para fungos.

Das 30 amostras positivas ao exame direto, 26 (86%) apresentaram crescimento de *Candida* sp. em Agar Sabouraud com cloranfenicol (50 mg/l). A *C. parapsilosis* foi isolada em 10 (33.3%) amostras, *C. albicans* em 4 (13.3%), *C. tropicalis* em 4 (13.3%), *C. glabrata* em 4 (13.3%), *C. pulcherrima* em 2 (6.6%), *C. famata* em 1 (3.3%) e *C. guilliermondii* em 1 (3.3%) caso (Figura 3). Em 4 (14%) casos positivos ao exame direto, não houve crescimento de colônias de leveduras em cultura (Figura 4).

Não observamos fungos filamentosos ao exame direto e cultura micológica.

Os resultados encontrados segundo a idade, sexo e atividade exercida dos manipuladores estão apresentados na Tabela 1.

TABELA I

Leveduras entre 30 manipuladores de alimentos de Recife, PE.

Manipulador N°	Sexo	Idade	Atividade Exercida	Exame direto	Cultura	Identificação de Levedura
2	M	20	cofeiro	pos	pos	<i>Candida guilliermondii</i>
2	F	44	cozinheira	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
3	M	33	garçom	pos	pos	<i>Candida glabrata</i>
4	M	24	auxiliar de cozinha	pos	pos	<i>Candida pulcherrima</i>
5	M	40	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
6	M	27	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida albicans</i>
7	M	30	garçom	pos	neg	-
8	M	26	auxiliar de cozinha	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
9	F	32	auxiliar de cozinha	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
10	M	27	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida pulcherrima</i>
11	M	28	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
12	M	35	chefe confeitaria	pos	pos	<i>Candida famata</i>
13	M	25	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida glabrata</i>
14	M	49	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida tropicalis</i>
15	M	20	auxiliar de cozinha	pos	pos	<i>Candida tropicalis</i>
16	M	32	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida tropicalis</i>
17	M	24	confeiteiro	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
18	M	28	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida tropicalis</i>
19	M	36	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
20	F	39	confeiteira	pos	pos	<i>Candida glabrata</i>
21	M	29	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
22	M	33	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida albicans</i>
23	M	29	padeiro	pos	neg	-
24	F	26	açougueiro	pos	neg	-
25	F	48	auxiliar de cozinha	pos	pos	<i>Candida albicans</i>
26	M	35	garçom	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
27	M	32	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
28	M	20	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida albicans</i>
29	F	28	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida glabrata</i>
30	M	28	cozinheiro	pos	neg	-

LEGENDA: pos, positivo; neg, negativo.

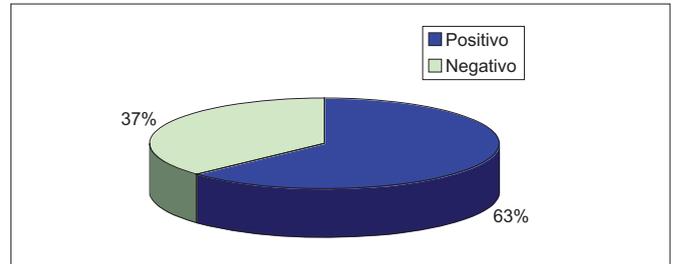


Fig. 1a - Distribuição de Casos de Onicomicose em manipuladores de Alimentos do Sexo Masculino.

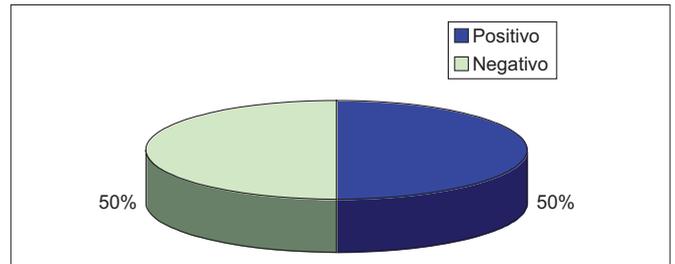


Fig. 1b - Distribuição de Casos de Onicomicose em manipuladores de Alimentos do Sexo Feminino.

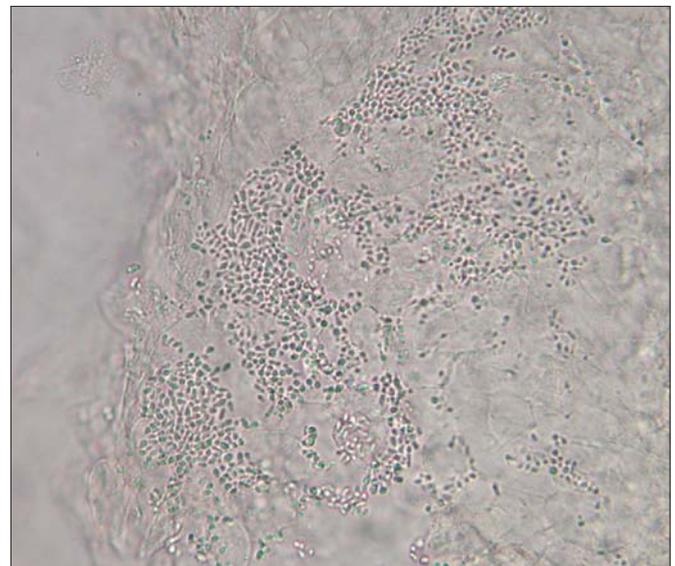


Figura 2 - Cedida por: Kedna de Magalhães Lima

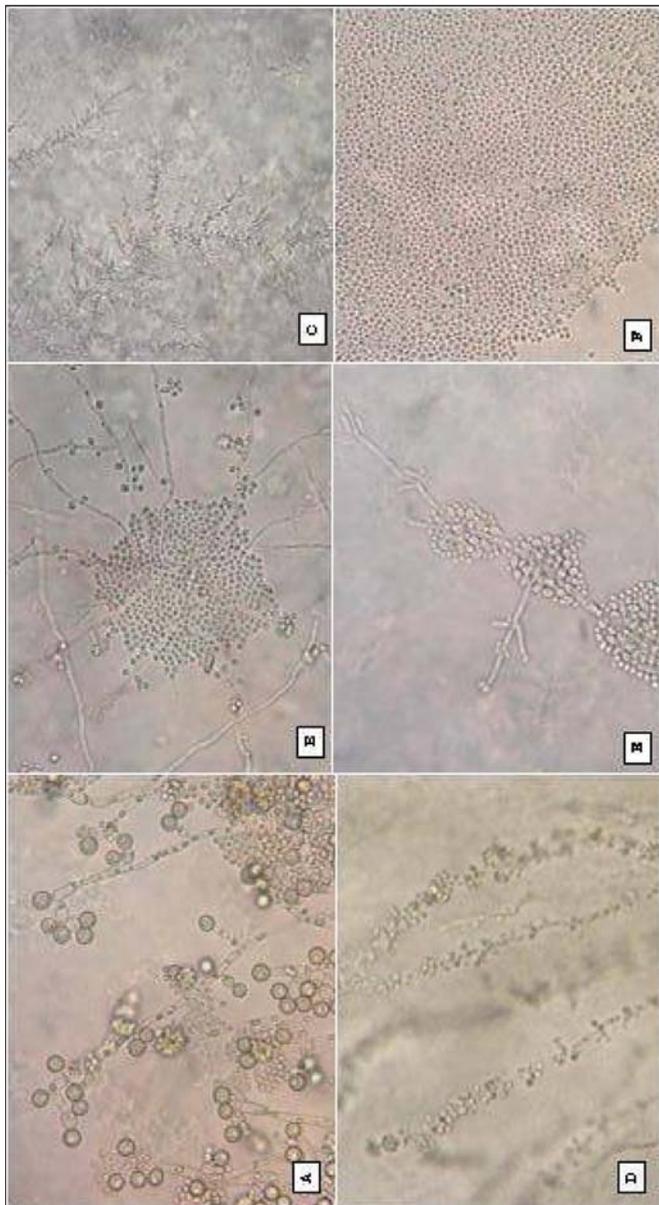


Figura 3 - Cedida por: Kedna de Magalhães Lima

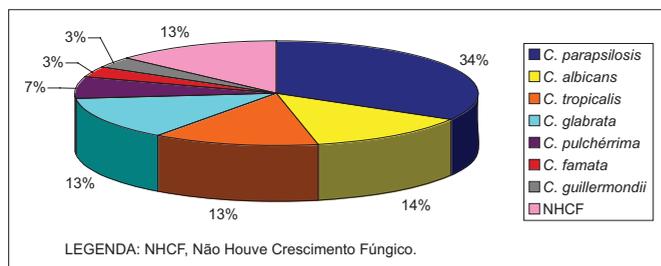


Fig. 4 - Distribuição das espécies de *Candida* isoladas em unhas das mãos de manipuladores de alimentos. A *Candida parapsilosis* representa a espécie mais isolada.

DISCUSSÃO

A higienização dos manipuladores de alimentos é essencial para a produção segura e inócua de qualquer tipo de produto alimentício. Existem muitos casos de doenças de origem alimentar apontadas atualmente pela Organização Pan-americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde

como uma das causas mais importantes de perdas de vidas humanas. Esse fato despertou uma maior atenção e motivou o fortalecimento de organizações, como o Instituto Pan-americano de Proteção de Alimentos e Zoonose (INPPAZ), que tem como objetivo fornecer cooperação técnica em inocuidade alimentar a todos os países das Américas, a fim de diminuir os riscos para a saúde da população humana, originados pelas enfermidades transmitidas por alimentos.

Os exames laboratoriais são muito importantes para prevenir, detectar e curar algumas doenças endêmicas, agudas e crônicas, permitindo manter o indivíduo em boa forma física, sem doenças transmissíveis. Os exames obrigatórios, segundo a portaria do Centro de Vigilância Sanitária, Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo (CVS-6), são exames de fezes, como a cultura e o parasitológico e exames de sangue. Além desses métodos laboratoriais, utiliza-se o exame de urina, cultura bacteriológica de secreção orofaríngea e exame micológico em escamas ungueais das mãos, para diagnosticar fungos patogênicos (Silva Junior, 1995).

No presente trabalho, 60% dos indivíduos analisados apresentaram leveduras em unhas das mãos, fato favorecido pelo contato constante com água por parte desses profissionais, propiciando a colonização e penetração do fungo (Miranda *et al.*, 2005). Da mesma forma, alguns trabalhos demonstraram que a *Candida* sp. é o principal agente de onicomicose (Ralph *et al.*, 1998; Ellabib *et al.*, 2002).

Das espécies de *Candida*, a *C. parapsilosis* se destacou entre as demais. Alguns autores, também encontraram esta espécie com maior frequência em escamas ungueais (Kurtzman & Fell, 1998; Midgley & Moore, 1998; Gautret & Rodier, 2000; Silva *et al.*, 2005). Entretanto, outros trabalhos demonstram predominância de *C. albicans* como agente de onicomicose (Lopes *et al.*, 1999; Pontes *et al.*, 2002; Miranda *et al.*, 2005). Ambas as espécies são capazes de aderir ao leito ungueal.

Neste estudo observamos que a presença de leveduras em escamas ungueais predominou em manipuladores do sexo masculino, entretanto deve-se salientar que houve um predomínio destes na nossa amostragem.

É importante ressaltar que das 50 amostras ungueais analisadas, nos 30 casos positivos para células de leveduras em exame direto, houve também a presença de numerosas bactérias, o que demonstra uma possível infecção secundária. Segundo Silva Junior (1995), as mãos podem veicular vários microrganismos importantes como a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*. A presença de qualquer um desses microrganismos no alimento pode ocasionar problemas de saúde. Segundo Franco & Landgraf (2003), a *E. coli* pode ocasionar vários sintomas entre eles febre alta, diarreia, dores abdominais e vômito, podendo ser mais grave em crianças e idosos. *Staphylococcus aureus* causa náuseas, cólicas abdominais, diarreias, sudorese, podendo até ser fatal. *Bacillus cereus* pode causar diarreia intensa, vômito, náusea e mal estar.

Em 14% dos casos estudados com exame direto positivo, não houve crescimento fúngico, isto pode estar relacionado à presença de bactérias nas amostras clínicas. Alguns trabalhos relatam a interação entre espécies de *Candida* e *Pseudomonas aeruginosa*. Esta atua formando um denso biofilme sobre as estruturas filamentosas de *Candida* impedindo o seu crescimento (Hogan & Kolter, 2002). Desta forma, sugerimos a utilização de antimicrobianos de maior espectro adicionados aos meios seletivos para cul-

tura de leveduras, evitando o crescimento de bactérias resistentes que possam impedir o desenvolvimento de importantes leveduras.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstraram que as espécies de *Candida* são muito freqüentes em unhas de manipuladores de alimentos, fato que pode ser explicado pelo contato constante das mãos desses profissionais com água e alimentos. Além disso, a presença de leveduras pode favorecer o aparecimento de infecções secundárias, sugerido pela presença de numerosas bactérias observadas ao exame direto das escamas ungueais desses profissionais.

Do ponto de vista de saúde pública é importante a identificação de portadores de agentes patogênicos implicados na propagação de infecções alimentares através da manipulação. Desta forma, reforçamos a necessidade do cumprimento das normas recomendadas pelos Centros de Vigilância Sanitária.

REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, R.C.C.; KUAYE, A.Y.; SERRANO, A.M.; ALMEIDA, P.F. Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. *Revista de Saúde Pública*, v. 29, n. 4, p. 290-294, 1995.
2. ARAÚJO, A.J.G.; SOUZA, M.A.J.; BASTOS, O.M.; OLIVEIRA, J. Onicomioses por fungos emergentes: análise clínica, diagnóstico laboratorial e revisão. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p. 445-455, 2003.
3. ELLABIB, M.S.; AGAJ, M.; KHALIFA, Z.; KAVANAGH, K. Yeasts of the genus *Candida* are the dominant cause of onychomycosis in Libyan women but not men: results of a 2 year surveillance study. *Brit J Dermatol*, v. 146, p.1038-1041, 2002.
4. ESTEVES, J.A.; BAPTISTA, A. P.; RODRIGO, F. G. *Dermatologia*. Lisboa: Caluste Gulbenkian, 2 ed, 1643 p., 1992.
5. FRANCO, B.D.G. M; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo, editora Atheneu, 182 p. 2003.
6. GAUTRET P, RODIER MH, LACROIX KC, JACQUEMIN JL. Case Report and Review. Onychomycosis due to *C. parapsilosis*. *Mycoses*, v. 43, p. 433-435, 2000.
7. HOGAN, D.A.; KOLTER, R. Pseudomonas-Candida interactions: an ecological role for virulence factors. *Science*, v.296, p. 2229-2232, 2002.
8. KURTZMAN, C.P.; FELL, J.W. *The yeast's: a taxonomic study*, 4 Ed. Elsevier,

New York., p. 919-925, 1998.

9. LOPES, J.O.; ALVES, S.H.; MARI, C.R. et al. A ten-year survey of onychomycosis in the central region of the Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Inst Med Trop*, v. 41, p.147-149, 1999.
10. MIDGLEY G, MOORE MK. Onychomycosis. *Revista Iberoamericana de Micología*, Barcelona, v. 15, p. 113-117, 1998.
11. MIRANDA, K.C.; ARAUJO C.R.; KHRAIS, C.H.A.; LEMOS, J.A.; COSTA, C.R.; SOUZA, L. K. H.; PASTOS, X.S.; FERNANDES, O.F.L.; SILVA, M.R.R. Identificação de leveduras do gênero *Candida* nas unhas e em descamação de pele em Goiânia (GO), durante o ano de 2003. *Revista de Patologia Tropical*, v. 34, n. 2, p. 123-128, 2005.
12. NOTERMANS, S.; VERDEGAAL, A. H. Existing and emergin foodborne diseases. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdã, v. 15, p. 197-205, 1992.
13. PASSOS, X.S; SOUZA, L.H.; COSTA, M. ; COSTA, C.R. ; FERNANDES, O.F.L. ; SILVA, M.R.R. Incidência de leveduras nas mãos de trabalhadores do serviço pediátrico do hospital materno-infantil de goiânia-GO. *Revista de Patologia Tropical*, v. 29, n. 2, p. 197-203, 2000.
14. PONTES, Z.B.; LIMA EDE, O.; OLIVEIRA, N.M.; DOS SANTOS J.P.; RAMOS, A.L.; CARVALHO, M.F. Onychomycosis in João Pessoa city, Brazil. *Rev Argent Microbiol*, v. 34, p. 95-99, 2002.
15. RALPH, D.C.; ADITYA, G.K.; MELISSA, D.P.; SABRA, S. *Candida* infection of the nail: role of *Candida* as a primary or secondary pathogen. *Internat J Dermatol*, v. 37, p. 904-907, 1998.
16. RIBEIRO, E.G.A.; MARTINS, A.M.B.; OLIVEIRA MA, SILVA P, ERRERA MC, CARLONI MC ET AL. Identificação do agente causal de um surto de intoxicação alimentar. *Hig Alim*, v.13, p. 88-90, 1999.
17. SABIONI, J.G.; HIROOKA, E.Y.; SOUZA, M.L.R. Intoxicação alimentar por queijo minas contaminado com *Staphylococcus aureus*. *Rev Saúde Pública*, v. 22, p. 458-61, 1998.
18. SILVA, J. O.; CAPUANO, D.M.; TAKAYANAGUI, O.M.; GIACOMETTI JR., E. Enteroparasitoses e onicomioses em manipuladores de alimentos do município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 8, n. 4, p. 385-92, 2005.
19. SILVA JUNIOR, E. A. *Manual do controle higiênico-sanitário em alimentos*. São Paulo, editora Varela, 4° ed, 1995.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Kedma de Magalhães Lima
Rua Paes Cabral, nº 379, Apt. 02, Cordeiro
CEP: 50630-170 Recife-PE
E-mail: kedma.biom@gmail.com
Fone: (81) 3226-9079

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

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Determinação do limite mínimo de detecção da técnica de pcr “semi-nested” para *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae*¹

Determination of detection minimum limit by polymerase chain reaction seminested to *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae*

Enio Paulo Teló², Alice Beatriz M P Machado², Virginia M Schmitt² & Marisa Chesky²

RESUMO - Mundialmente, as meningites bacterianas constituem importante causa de morbimortalidade na infância, exigindo um diagnóstico rápido e preciso no manejo dos pacientes. O objetivo deste estudo foi determinar o limite mínimo de detecção da técnica de PCR “semi-nested” “in house” para os três principais agentes causadores de meningites bacterianas: *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae*. Diluições seriadas de cada bactéria foram submetidas à técnica de PCR “semi-nested” para detecção simultânea dos três microrganismos, pela amplificação de uma região do gene bacteriano 16S rRNA. Os produtos finais foram amplicons específicos de diferentes pesos moleculares para *N. meningitidis*, *H. influenzae* e gênero-específico para *Streptococcus sp.* A forma de visualização dos resultados foi através de eletroforese em gel de agarose para a detecção dos produtos da PCR. Determinou-se que o limite mínimo de detecção para *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae* foi respectivamente de 10³, 10² e 10⁴ UFC/mL.

PALAVRAS-CHAVE - Meningites bacterianas, PCR, Limite mínimo de detecção.

SUMMARY - Worldwide, the bacterial meningitis are important reason of mortality and morbidity at infancy age, requiring a fast and accurate diagnostic on handling these patients. The intention of this study was to determine the detection minimum limit by seminested PCR technique in house for the main three agents responsible by bacterial meningitis: *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae*. Serial dilutions of each bacterium were submitted to seminested PCR for simultaneous detection of the three pathogens by amplification a region of bacterial gene 16S rRNA. The final products were specific amplicons of different sizes to *N. meningitidis*, *H. influenzae* and specific genus to *Streptococcus sp.* The results were visualized by electrophoresis agarose gel with ethidium bromide. The detection minimum limit to *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* were respectively 10³, 10² e 10⁴ UFC/mL.

KEYWORDS - Bacterial meningitis, PCR, Detection minimum limit.

INTRODUÇÃO

As meningites bacterianas continuam sendo um grande problema de saúde pública no Brasil e no mundo, constituindo importante causa de morbimortalidade na infância. Em todo o mundo, sem epidemias, um milhão de casos de meningite bacteriana são estimados para ocorrer, e dentro destes, 200.000 morrerão anualmente. O número de casos fatais varia com a idade, o tempo da doença e a espécie da bactéria causadora da infecção, mas tipicamente os casos fatais estão entre 3 a 19 % nos países desenvolvidos e 37 a 60 % nos países em desenvolvimento (9). As seqüelas neurológicas ocorrem em 5% a 30% dos sobreviventes, e devem-se principalmente ao retardo no estabelecimento do diagnóstico e no início do tratamento antimicrobiano eficaz (15). Diversos agentes bacterianos podem causar meningites piogênicas, entre os mais comuns estão a *Neisseria meningitidis*, o *Haemophilus influenzae* e o *Streptococcus pneumoniae*, sendo responsáveis por mais de 90 % dos casos de meningites bacterianas (13,6,16).

A persistência global das meningites, em especial das causadas por *Neisseria meningitidis*, é devida ao significativo número de portadores assintomáticos e à dinâmica de transmissão da doença. Estima-se que aproximadamente 500 milhões de pessoas em todo o mundo são portadoras de *Neisseria meningitidis* em sua nasofaringe, sendo um importante fator de risco para a transmissibilidade da doença (1).

Fatores como a progressão acelerada da doença, o grande número de portadores e o modo de transmissão justificam o difícil manejo desta patologia e a necessidade de ferramen-

tas diagnósticas mais rápidas, sensíveis e específicas. A alta mortalidade e morbidade destas meningites e a demora na identificação do patógeno através dos métodos microbiológicos tradicionais exigem tratamento empírico com antibiótico. Entretanto, este procedimento resulta na queda da sensibilidade para identificação do agente etiológico no líquido cefalorraquidiano (LCR) pelos métodos convencionais de diagnóstico (12). A cultura, ainda considerada como “padrão ouro” no diagnóstico das infecções bacterianas, identifica o agente etiológico em 70 a 85 % dos casos de meningite bacteriana, mas sua sensibilidade cai para valores inferiores a 50 % nos pacientes que já receberam antibioticoterapia antes da realização da punção lombar (3).

O desenvolvimento da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) por Kary Mullis e colegas, na década de 80, revolucionou a análise baseada em ácidos nucleicos, permitindo a amplificação “in vitro” de seqüências específicas de DNA (10). A PCR tem sido amplamente utilizada nas mais diferentes áreas da pesquisa biomédica. O maior impacto tem sido no diagnóstico de doenças infecciosas, em especial aquelas causadas por microrganismos não cultiváveis, de crescimento lento ou que exigem meios de cultura altamente especializados, como vírus, determinadas bactérias, fungos e protozoários. A PCR possibilita a análise de um maior número de patógenos de maneira mais rápida e precisa, independente da resposta imune do paciente (2,4,8).

O diagnóstico das meningites bacterianas realizado pelo uso da PCR no LCR possibilita a detecção do agente etiológico com sensibilidade na faixa de 86-94 % e especificidade de 96-100 % (16,11,14). Esta técnica de diagnóstico

Recebido em 15/03/2006

Aprovado em 11/07/2007

¹Hospital de Clínicas de Porto Alegre – HCPA – Laboratório de Biologia Molecular

²Farmacêutico Bioquímico

molecular também é útil em situações onde a antibioticoterapia já foi iniciada, visto que a mesma não necessita do organismo viável para confirmar o diagnóstico. Entretanto, a utilização desta técnica requer padronização de todas as etapas envolvidas na reação. É necessária a preparação das soluções de uso utilizadas na extração e na amplificação dos ácidos nucleicos (RNA e DNA) com o máximo de rigor, para se evitar as contaminações com as enzimas que degradam ácidos nucleicos (DNases e RNases), que podem estar presentes em diversos lugares, tais como na pele, nas superfícies do laboratório, na água e etc (17).

Devido a variações técnicas inter laboratoriais, deve-se determinar o limite mínimo de detecção da técnica para cada laboratório. Este limite é definido como a mínima quantidade de DNA alvo que pode ser identificado em uma amostra com um determinado intervalo de confiança. O limite mínimo de detecção com o uso de diluições de culturas bacterianas para *N. meningitidis*, *H. influenzae* e *S. pneumoniae* usando a técnica de PCR "semi-nested" foi avaliado por Radstrom *et al* e Hall *et al*, mostrando resultados semelhantes entre os estudos (11,7).

Devido à não disponibilidade de kits comerciais no mercado para a detecção simultânea das três bactérias em estudo, uma técnica de PCR "in house" foi desenvolvida na Unidade de Microbiologia e Biologia Molecular do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), que foi incorporada na rotina de diagnóstico (11).

O método molecular empregado foi validado clínica e laboratorialmente, estudando o LCR de 182 crianças com suspeita de meningite bacteriana. Os pacientes foram distribuídos em 3 grupos, de acordo com o quadro clínico apresentado, a evolução durante o período de internação e o resultado dos exames laboratoriais. O estudo apresentou sensibilidade de 88,1 %, especificidade de 99 % e valores preditivos positivo e negativo de 98,4 % e 90,1 %, respectivamente (5).

O objetivo deste estudo foi determinar o limite mínimo de detecção da técnica de PCR "semi-nested" "in house" para os três principais agentes causadores de meningites bacterianas: *N. meningitidis*, *H. influenzae* e *S. pneumoniae*

MATERIAIS E MÉTODOS

As bactérias utilizadas neste estudo, fornecidas pela Unidade de Microbiologia do HCPA, foram: *Neisseria meningitidis*, identificada na rotina com kit comercial API® NH RF 10400 (Biomérieux, Marcy L'Etoile, France); *Haemophilus influenzae* ATCC 49247 e *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Após identificação e isolamento, as bactérias foram semeadas em ágar chocolate, para a realização das diluições.

Diluições seriadas das três bactérias em estudo, que iniciaram em uma concentração de 0,5 McFarland (1×10^8 UFC/mL) e se estenderam sucessivamente (1×10^7 , 1×10^6 , 1×10^5 , 1×10^4 , 1×10^3 , 1×10^2 e 1×10^1 UFC/mL) foram utilizadas para o estabelecimento do limite mínimo de detecção. Foram realizadas culturas das diluições de cada bactéria (1×10^5 , 1×10^4 , 1×10^3 , 1×10^2 e 1×10^1 UFC/mL) em ágar chocolate para se verificar a sensibilidade da cultura, haja vista que este método continua sendo o padrão ouro para o diagnóstico.

As mesmas diluições semeadas nos meios de cultura foram testadas 16 vezes em dias diferentes para comprovação da reprodutibilidade da técnica de PCR. Para amplificação do material genético de cada microrganismo, utilizou-se 140 µL de cada diluição para a extração do DNA, fazendo uso do Kit comercial QIAamp kit (Qiagen®, Valencia, USA), conforme instruções do fabricante. As extrações, a partir das diluições bacterianas, foram repetidas 3 vezes para se ter um volume

suficiente de material extraído para as reações de PCR. Para o *S. pneumoniae* foi realizado uma prévia incubação a 80°C durante 30 minutos antes da extração do DNA.

As diluições foram submetidas à técnica de PCR "semi-nested" para detecção simultânea da *N. meningitidis*, *H. influenzae* e *S. pneumoniae*, pela amplificação de uma região do gene bacteriano 16S rRNA. *Primers* específicos foram usados em conjunto com *primers* complementares às regiões universais U3 e ru8 do gene 16S rRNA, em um ensaio de PCR com duas etapas (2). Na primeira etapa, a amplificação foi realizada com os *primers* universais externos (U3 e ru8) que produzem um amplicon bacteriano de tamanho único 1000 pb (pares de bases), independente da bactéria presente no material estudado. A segunda etapa combina três *primers* diretos específicos, um para cada bactéria, e o *primer* reverso universal ru8. Os produtos finais são amplicons espécie-específicos de diferentes pesos moleculares para *N. meningitidis*, *H. influenzae* e gênero-específico para *Streptococcus sp.*

As reações de PCR na primeira etapa continham 16mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 67mM Tris HCl (pH 8,8 à 25°C), 0,01% (P/V) Tween-20, MgCl_2 1,5mM, mistura dos desoxirribonucleosídeos trifosfato na concentração de 0,25mM, *primers* externos na concentração de 0,1 µM e 1,25 U da enzima Super-Therm DNA polimerase (Southern Cross Biotechnology Ltd., Cape Town, South África). Na primeira fase foram adicionados 10 µL da diluição bacteriana extraída. O volume final da reação foi de 50 µL e a amplificação foi executada em termociclador PTC-100 (MJ Research™, Waltham, USA), utilizando um período de desnaturação inicial de 94°C por 1 minuto e 40 segundos, seguido de 33 ciclos de 20 segundos a 94°C, 20 segundos de anelamento a 60°C e 20 segundos de polimerização a 72°C.

A segunda etapa da amplificação usando os *primers* específicos mais o *primer* reverso universal ru8 aconteceu em mistura idêntica à etapa anterior, sendo o volume total da reação de 25 µL. Foi utilizado 2 µL da primeira reação de PCR como amostra nesta etapa. O período de desnaturação foi de 45 segundos a 94°C, seguido de 33 ciclos de 15 segundos a 94°C, 15 segundos de anelamento a 55°C e 20 segundos de polimerização a 72°C.

Os procedimentos de preparação dos reagentes, processamento da amostra, amplificação, transferência do produto da primeira para a segunda etapa e detecção do produto amplificado, foram realizados em quatro ambientes distintos para se eliminar a possibilidade de contaminação. Além disso, foram utilizadas ponteiras com filtros de barreira, controles negativos em cada reação e a mistura de reagentes foi irradiada com luz UV (254 nm) por 15 minutos antes da adição das diluições bacterianas extraídas.

Os produtos da amplificação foram detectados por eletroforese, utilizando-se 10 µL da segunda reação de PCR em gel de agarose 2 %, contendo 0,5 µg/mL de brometo de etídio. A visualização foi realizada em transiluminador com luz ultravioleta. Um marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen®, Carlsbad, USA) foi empregado para avaliar os resultados da reação. As bactérias foram diferenciadas pelos pesos moleculares dos amplicons específicos: *N. meningitidis* (700 pb), *H. influenzae* (500 pb) e *S. pneumoniae* (300 pb).

A análise do limite mínimo de detecção para cada microrganismo estudado foi a maior diluição que ainda resultou em um fragmento de DNA visível no gel de agarose correspondente ao peso molecular do amplicon específico.

O projeto deste estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e julgado adequado.

Análise estatística

O cálculo do número de repetições para se avaliar o limite de detecção para a técnica de PCR "semi-nested" para *N. meningitidis*, *H. influenzae* e *S. pneumoniae* foi estimado através do programa de análise estatística PEPI (versão 3.0), resultando em um número de 16 repetições ($\alpha=0,05$ %) para cada diluição de cada cepa.

Os resultados das 16 repetições da reação de PCR para cada diluição foram analisados verificando-se o percentual de positividade, aceitando-se uma margem de erro de mais ou menos 10 %.

RESULTADOS

Limite mínimo de detecção

Para determinar o limite mínimo de detecção foram utilizadas 10 μ L das diluições de 1×10^1 até 1×10^5 UFC/mL de cada bactéria, repetindo-se 16 reações de PCR para cada diluição em dias diferentes.

O limite mínimo de detecção da reação de PCR "semi-nested" para *N. meningitidis* foi 10^3 UFC/mL com 93,8% de positividade, *H. influenzae* 10^2 UFC/mL com 93,8% de positividade e para *S. pneumoniae* 10^4 UFC/mL com 100% de positividade (Tabela I).

TABELA I

Percentagem de positividade do limite mínimo de detecção.

Bactéria/diluição	10^1 *UFC/mL (%)	10^2 UFC/mL (%)	10^3 UFC/mL (%)	10^4 UFC/mL (%)	10^5 UFC/mL (%)
<i>N. meningitidis</i>	0	25	93,8	100	100
<i>H. influenzae</i>	6,3	93,8	100	100	100
<i>S. pneumoniae</i>	0	0	0	100	100

*UFC = Unidades formadoras de colônias

O limite mínimo de detecção utilizando 10 μ L de DNA extraído das diluições bacterianas por reação foi de 1 UFC/ μ L para *N. meningitidis*, 0,1 UFC/ μ L para *H. influenzae* e 10 UFC/ μ L para *S. pneumoniae*.

Cultura das diluições bacterianas

As culturas das diluições bacterianas em ágar chocolate para *N. meningitidis* e *H. influenzae* e ágar sangue para *S. pneumoniae* apresentaram o mesmo título de crescimento até 10^2 UFC/mL para as três bactérias testadas (Figura 1).



Figura 1- Cultura das diluições 1×10^5 até 1×10^1 UFC/mL (sentido horário) para *N. meningitidis*, *H. influenzae* e *S. pneumoniae*, respectivamente.

A presença de bandas específicas de *N. meningitidis* (700 pb), *H. influenzae* (500 pb) e *S. pneumoniae* (300 pb) foram comparadas com um marcador de peso molecular de 100 pb (Figura 2).

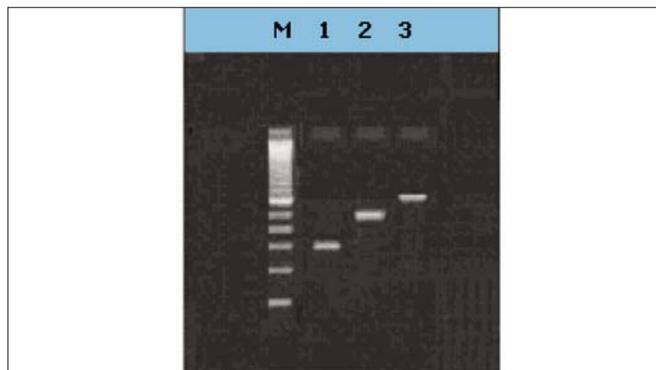


Figura 2-Eletroforese em gel de agarose 2 % mostrando os fragmentos da amplificação das três bactérias pesquisadas. 1- *S. pneumoniae* (300 pb) 2- *H. influenzae* (500 pb) 3- *N. meningitidis* (700 pb) e M marcador peso molecular (100 pb).

DISCUSSÃO

Um diagnóstico rápido é crucial para o prognóstico e o tratamento precoce de indivíduos com meningite bacteriana, evitando assim associações desnecessárias ou o uso indiscriminado de antimicrobianos de largo espectro (13). O desenvolvimento e aprimoramento dos métodos moleculares têm melhorado a sensibilidade e a especificidade do diagnóstico das doenças infecciosas através da detecção do DNA do agente etiológico.

O presente estudo determinou o limite mínimo de detecção da reação de PCR "semi-nested" "in house" para as três bactérias do estudo e obteve 10^3 UFC/mL para *N. meningitidis*, 10^2 UFC/mL para *H. influenzae* e 10^4 UFC/mL para *S. pneumoniae*. A reação de PCR mostrou resultados reprodutíveis mesmo com o aumento das variáveis, como o uso de três extrações de DNA diferentes.

As culturas das diluições das três bactérias, que foram realizadas em placas de ágar chocolate e ágar sangue para *S. pneumoniae*, serviram para garantir a pureza das preparações das bactérias utilizadas e a correta diluição de cada cepa.

Hall *et al* pesquisaram o limite mínimo de detecção para as mesmas bactérias utilizando a reação de PCR "semi-nested", tendo como alvo o mesmo gene, 16sRNA, mas empregando seqüências diferentes de primers. O estudo obteve limites de $5,25 \times 10^2$, 6×10^2 e $5,5 \times 10^2$ UFC/mL para *N. meningitidis*, *H. influenzae* e *S. pneumoniae* respectivamente (7). Hall e pesquisadores utilizaram, antes da extração de DNA com fenol-clorofórmio, lisozimas para romper as paredes bacterianas e liberar mais facilmente o material genético para a amplificação. Esta pré-lise pode melhorar a sensibilidade da reação de PCR para bactérias de parede celular mais complexa, como por exemplo do *S. pneumoniae*.

Ao compararmos os resultados obtidos em nosso estudo com os de Hall *et al*, verificamos que se obteve um limite mínimo de detecção 6 vezes menor para *H. influenzae*. Entretanto, para *N. meningitidis*, o limite foi de aproximadamente 1,9 vezes maior, e para *S. pneumoniae* o limite mínimo de detecção foi 18 vezes maior.

Radstrom *et al* submeteram as amostras à fervura por 15 minutos, sem utilizar extração de DNA, obtendo um limite mínimo de detecção de 3×10^2 UFC/mL para *N. meningitidis*. Os limites para *H. influenzae* e *S. pneumoniae* não foram apresentados neste estudo (11). Estes pesquisadores utilizaram como alvo a mesma região do gene 16sRNA e os mesmos primers do presente estudo. Fazendo a comparação, Radstrom *et al* obtiveram um limite mínimo de detecção para *N. meningitidis* de aproximadamente 3,3 vezes menor que o nosso estudo.

A sensibilidade da técnica de PCR "semi-nested" "in house" encontrada no presente estudo para *H. influenzae* foi maior que a encontrada por Hall *et al.* No entanto, para *N. meningitidis* e *S. pneumoniae* a sensibilidade da PCR foi menor que nos estudos referenciados. A maior discrepância na sensibilidade foi encontrada para *S. pneumoniae*, o que provavelmente se deve ao fato de não ter sido utilizado um pré-tratamento enzimático para o rompimento da parede celular bacteriana.

Considerando o não êxito do tratamento térmico empregado nas diluições antes da extração para *S. pneumoniae*, sugere-se o pré-tratamento das amostras com lisozimas para rompimento da parede celular bacteriana, para obter um limite mínimo de detecção menor.

A análise dos resultados permitiu dizer que a técnica de PCR "in house" possui sensibilidade e especificidade próximas de 100 %, sendo muitas vezes a PCR melhor que o padrão ouro de diagnóstico. Além de mais sensível e específica, a PCR "semi-nested" "in house" também possui o poder de aumentar os índices de identificação etiológica, principalmente quando os testes da rotina se apresentam negativos ou inconclusivos. A reprodutibilidade, o uso de controles internos e externos e a participação em programas de acreditação e qualidade laboratorial contribuem para a credibilidade da utilização da técnica de PCR na rotina diagnóstica, possibilitando um aumento considerável do número de casos de identificações etiológicas (5).

Para tanto, é necessária a cooperação de clínicos, pesquisadores e profissionais de laboratório para integrar os resultados da PCR com a apresentação clínica e história do paciente, resultados dos exames laboratoriais e evolução da doença. Somente assim o verdadeiro significado clínico da PCR será estabelecido (5,18).

REFERÊNCIAS

- 1-Almeida-Gonzalez L, Franco-Paredes C, Perez LF, Santos-Preciado JI. Meningococcal disease caused by *Neisseria meningitidis*: epidemiological, clinical, and preventive perspectives. *Salud Publica Mex.* 2004;46(5):438-50.
- 2-Bell J. The Polymerase chain reaction. *Immunol Today.* 1989;10:351-6.
- 3-Dalton HD, Allison MJ. Modification of laboratory results by partial treatment of bacterial meningitis. *The American Journal of Clinical Pathology.* 1968;49(3):410-13.
- 4-Einsentein MI. The polymerase chain reaction: A new method of using molecular genetics for medical diagnosis. *N Engl J Med.* 1990;18:178-83.
- 5-Failace Luciane Hoff. A reação em cadeia da polimerase no diagnóstico das meningites bacterianas. [dissertação de mestrado] Porto Alegre-RS: Ufrgs 1999.

- 6-Ferreira AW, Ávila SLM. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2º ed. In: Requejo, Henry I. Z. cap. 18 Rio de Janeiro-RJ: Guanabara Koogan, 2001;202-14.
- 7-Hall LMC, Duke B, Guiney M, Williams R. Typing of *Enterococcus* species by DNA restriction fragment analysis. *J Clin Micro.* 1992;30:915-19.
- 8-Jeffery KMJ, Bangham CRM. Recent advances in the laboratory diagnosis of central nervous system infection. *Curr Opin Infect Dis.* 1996;9:132-7.
- 9-Laboratory methods for the diagnosis of meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA, 1999.
- 10-Mullis KB. The unusual origin of polymerase chain reaction. *Sci Am.* 1990;April:36-43.
- 11-Radstrom P, Backman A, Qian N, Kragstberg P, Pahlson C, Olcen P. Detection of bacterial DNA in cerebrospinal fluid by an assay for simultaneous detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, and *Streptococci* using a seminested PCR strategy. *J Clin Micro.* 1994;32:2738-44.
- 12-Richardson DC, Louie L, Louie M, Simor AE. Evaluation of a rapid PCR assay for diagnosis of meningococcal meningitis. *J Clin Micro.* 2003;41:3851-53.
- 13-Romanelli RMC, Araujo CA, Dias MW et al. Etiologia e evolução das meningites bacterianas em centro de pediatria. *J Ped.* 2002;21:24-30.
- 14-Shuurman T, Boer RF, Kooistra-Smid AMD, van Zwet AA. Prospective study of use of PCR amplification and sequencing of 16S ribosomal DNA from cerebrospinal fluid for diagnosis of bacterial meningitis in a clinical setting. *J Clin Micro.* 2004;42:734-40.
- 15-Tunkel AR, Scheld WM. Pathogenesis and Pathophysiology of Bacterial Meningitis. *Clin Microbiol Rev.* 1993;6:118-36.
- 16-Tzanakaki G, Tsopanomalou M, Kesanopoulos K, Matzourani R, Sioumala M et al. Simultaneous single-tube PCR assay for the detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* type b and *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11:386-90.
- 17-Verlêngia R. Riscos da Técnica de Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) in house para detecção de agentes infecciosos. Roche Diagnóstica, São Paulo. 2002. Disponível em:
<http://www.roche-diagnostica.com.br/lab_system/web/artigos_amplificador3.asp>. Acesso em: 10 maio 2005.
- 18-White TJ, Madej R, Percing DH. The polymerase chain reaction: clinical applications. *Advances in Clinical Chemistry* 1992;29:161-69.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Enio Paulo Teló
Rua Marcio Baptista, 156/1202
Edif. André Luiz Guimarães, Stiep
CEP. 41770-015 Salvador - BA
Tel.: (71) 9197-7988
E-mail: enio_telo@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

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Anticorpos contra o citoplasma de neutrófilos

Antineutrophil cytoplasmic antibodies

Bruno Costa da Silva¹, Helena Decker¹, Michelle Andriquet², Márcia Terezinha Siqueira Volpato² & Raquel Maria Teixeira³

RESUMO - Os auto-anticorpos antiantígenos citoplasmáticos de neutrófilos (ANCA) têm importante associação ao diagnóstico e possível monitoramento de uma significativa parcela de doenças auto-imunes. A Proteinase 3 é o principal antígeno presente no tipo de marcação citoplasmática granular difusa (c-ANCA), e a Mieloperoxidase na marcação perinuclear (p-ANCA) em ensaios de imunofluorescência indireta (IFI) em neutrófilos fixados em etanol. A vasculite sistêmica compreende uma série de síndromes caracterizadas por dividir uma base histopatológica comum: inflamação nos vasos sanguíneos resultando em obstrução vascular com subsequente isquemia e enfartamento tissular. A vasculite constitui um grupo heterogêneo de doenças que possuem como característica comum à inflamação destrutiva da parede de vasos sanguíneos. O papel potencializador de ANCA sobre as lesões é descrito em estágios iniciais de vasculite sistêmica pelo fato deste promover o recrutamento e adesões entre neutrófilos e células endoteliais. O presente trabalho teve como objetivo focar o papel do c-ANCA e p-ANCA no diagnóstico laboratorial de Vasculite Sistêmica e o levantamento de exames efetuados no período de 16/04/04 a 20/04/06 para estes mesmos marcadores no laboratório de Imunologia Clínica do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago. Neste levantamento pudemos constatar uma reduzida parcela de resultados positivos para c-ANCA (15%) e p-ANCA (39%), fato este devido à larga gama de doenças com sintomatologias semelhantes às doenças relacionadas à ANCA, possuindo, porém ANCA negativo.

A avaliação clínica é importante no manejo de doenças auto-imunes, mas o laboratório representa papel decisivo na avaliação dessas doenças. Testes laboratoriais auxiliam ao estabelecer o diagnóstico, na monitorização do curso da doença, na predição de sua evolução, na decisão acerca da terapêutica, na avaliação da resposta à terapia e também para o estudo da etiologia ou patogênese das doenças auto-imunes.

PALAVRAS-CHAVE - Vasculite Sistêmica, c-ANCA e p-ANCA, diagnóstico laboratorial.

SUMMARY - ANCA are specific antibodies for antigens in cytoplasmic granules of neutrophils and monocyte lysosomes, first reported in 1982. (4) These antibodies can be detected with indirect immunofluorescence microscopy. The discovery of the serological markers known as antineutrophil cytoplasmic antibodies revolutionized the diagnosis and follow-up treatment of the various forms of vasculitis, the antineutrophil cytoplasmic antibodies pattern can be cytoplasmic or perinuclear. Two types of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA), antiproteinase 3 antibodies (anti-PR3) and antimyeloperoxidase antibodies (anti-MPO) are useful in the diagnosis of such types of vasculitis as Wegener granulomatosis and microscopic polyangiitis. Connective tissue diseases frequently appear in the differential diagnosis of this spectrum of vasculitis. Vasculitis is a process caused by inflammation of blood vessel walls and results in a variety of disorders. A good and accepted classification system for vasculitis has not emerged, although it may be categorized by the size or type of the involved blood vessel as large-, medium-, or small-vessel vasculitis. Small-vessel vasculitis is defined as vasculitis that affects vessels smaller than arteries (i.e., arterioles, venules, and capillaries); however, small-vessel vasculitis can also involve medium-sized arteries.

Retrospective review of patients with positive or negative ANCA by indirect immunofluorescence was undertaken to investigate the incidence of ANCA in LAC-HU-UFSC between 16/04/04 and 20/04/06. Among 129 patients tested 14 (15%) were cytoplasmic ANCA-positive and 14 (39%) were perinuclear ANCA-positive. ANCA testing is useful due to its high sensitivity and specificity, especially for c-ANCA/PR3-ANCA in WG.

KEYWORDS - Systemic Vasculitis, c-ANCA and p-ANCA, laboratorial diagnosis.

INTRODUÇÃO

A vasculite sistêmica compreende uma série de síndromes caracterizadas por dividir uma base histopatológica comum: inflamação nos vasos sanguíneos resultando em obstrução vascular com subsequente isquemia e enfartamento tissular (CSERNOK, 2002). Poucas doenças são mais desafiadoras em relação ao diagnóstico e tratamento quanto a vasculite sistêmica, possuem como característica comum à inflamação destrutiva da parede de vasos sanguíneos (JAYNE, 2005).

A vasculite sistêmica constitui um grupo heterogêneo de doenças que pode ser classificado em três grupos, dependendo do tamanho dos vasos envolvidos, sendo estes de pequeno, médio ou grande calibre (JENNETTE, 1994; HARPER *et al.* 2004). Os de grande calibre geralmente denotam a artéria aorta e seus principais ramos, sendo as vasculites mais conhecidas deste grupo a Arterite de Takayasu, a Arterite de células gigantes e a Síndrome de Cogan.

Os de médio calibre referem-se a vasos menores que os ramos aórticos que sejam, porém grandes o suficiente para conter quatro elementos: camada íntima, uma lâmina elástica interna contínua, uma camada muscular média e uma camada adventícia, estando compreendidas neste grupo a PAN, PAN cutânea, Doença de Burger, Doença de Kawasaki e a Angite primária do sistema nervoso central (SAVAGE, 2002).

Já os vasos de pequeno calibre, que incorporam todos os abaixo do nível macroscópico, incluem vênulas e arteríolas pós-capilares e os capilares propriamente ditos. Dentro deste grupo incluem-se as vasculites mediadas por imuno-complexo como Doença de Goodpasture, Angite leucocitoclástica cutânea, Púrpura de Henoch-Schönlein, Vasculite hipocomplementética urcitarial, Crioglobulinemia essencial e Eritrema elevatum diutinum, e as vasculites associadas a anticorpos anticitoplasma de neutrófilos (VAANCA) como Granulomatose de Wegener (GW), Poliangeite microscópica (PAM) e Síndrome de Churg-Strauss (SCS). Devido ao fato dos glomérulos poderem ser vistos simplesmente como

Recebido em 03/05/2006

Aprovado em 02/05/2007

¹Alunos da disciplina Estágio Supervisionado 10ª fase do curso de Farmácia-Análises Clínicas-UFSC. ²Farmacêuticas-bioquímicas do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário (LAC-HU-UFSC). ³Profª, Drª do Departamento de Análises Clínicas (ACL), Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

capilares diferenciados, formas de vasculites que causam glomerulonefrites (GN) são consideradas como de vasos de pequeno calibre (JAYNE, 2005).

Os auto-anticorpos antiantígenos citoplasmáticos de neutrófilos (ANCA), descritos pela primeira vez no início da década de oitenta como promotores de uma marcação citoplasmática granular difusa (c-ANCA) em ensaios de imunofluorescência indireta (IFI) em neutrófilos fixados em etanol (CSERNOK, 2002; STEGEMAN, 2002; POLLOCK *et al.* 2002), receberam especial atenção desde que foram associados ao diagnóstico e possível monitoramento da GW, PAM, GN e SCS (SAVIGE, *et al.* 1998; CSERNOK, *et al.* 2002; van der Woude, 2002; KARIM, 2005).

A Proteinase 3 (PR3) foi subsequentemente identificada como o principal antígeno alvo para c-ANCA. Ao mesmo momento, a ligação de ANCA com Mieloperoxidase (MPO), produzindo uma marcação com perfil perinuclear (p-ANCA) em ensaios de IFI em neutrófilos fixados em etanol foram identificadas no soro de pacientes portadores de PAM, GN ou GW. Muitos outros constituintes dos grânulos de neutrófilos foram identificados como potenciais antígenos alvo para ANCA em uma variedade de doenças, porém muitos estudos clínicos vêm confirmando que apenas c-ANCA reagindo com PR3 e p-ANCA com MPO são significativamente específicos para as vasculites auto-ímmunes de GW e PAM, respectivamente (HAGEN, 1998; WILK, 2002; RUSSEL *et al.* 2002).

MATERIAL E MÉTODOS

Para execução do trabalho foi realizado o levantamento de exames efetuados no período de 16 de abril de 2004 a 20 de abril de 2006, para estes marcadores no laboratório de Imunologia Clínica do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago.

O método utilizado para detecção destes anticorpos foi imunofluorescência indireta. O soro do paciente diluído é incubado com substrato de antígeno presente nas cavidades das lâminas, sendo que os anticorpos anti-ANCA presentes no soro do paciente se ligarão aos granulócitos humanos fixados em etanol sobre a lâmina. Os anticorpos não ligados serão eliminados nas lavagens seguidos de uma segunda incubação com o conjugado específico anti-IgG humana marcado com isotiocianato de fluoresceína (FITC). Quando observadas através de um microscópio de fluorescência, as amostras auto-anticorpos positivas exibirão fluorescência verdes maçã nas áreas da célula ou do núcleo onde os auto-anticorpos se ligaram.

É identificado como resultado positivo para c-ANCA uma intensa coloração granular do citoplasma estendendo-se até a borda dos granulócitos humanos, apresentando fluorescência de 1+ ou mais, com ausência de coloração nuclear. Já para p-ANCA é observada uma intensa coloração perinuclear do núcleo multilobular com fraca definição da borda da célula. Uma fluorescência de 1+ ou mais é considerado um resultado positivo.

RESULTADOS

Foram realizados no período de 16 de abril de 2004 a 22 de julho de 2005 no laboratório de Imunologia Clínica do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, 129 exames para os marcadores c-ANCA e p-ANCA, entre eles 101 tiveram resultados negativos para ANCA, e 28 tiveram resultados positivos, o que corresponde a 78% e 22%, respectivamente (Fig. 1).

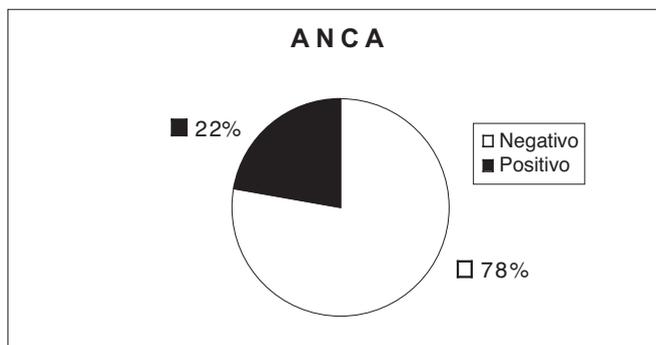


Figura 1 Resultados da avaliação de auto-anticorpos antiantígenos citoplasmáticos de neutrófilos (ANCA) em 129 solicitações, destas 101 (78%) foram negativas e 28 (22%) foram positivas, efetuadas no período de 16 de abril de 2004 a 20 de abril de 2006 no laboratório de Imunologia Clínica do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago.

A figura 2 expressa o número de resultados positivos e negativos referentes aos exames solicitados para c-ANCA. Pode-se observar que 79 exames, o que equivale a 85%, tiveram resultado negativo enquanto 14 exames, equivalente a 15%, resultado positivo.

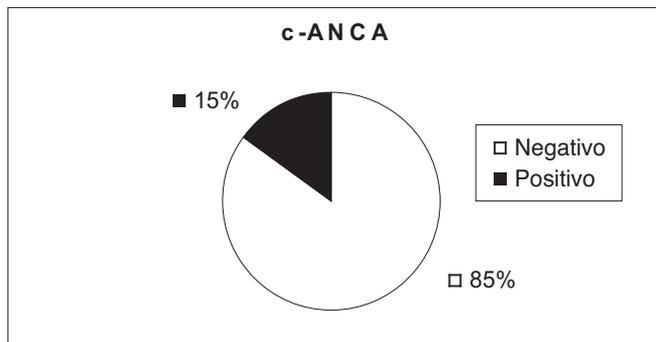


Figura 2. Resultados da avaliação de auto-anticorpos antiantígenos citoplasmáticos de neutrófilos padrão citoplasmático (c-ANCA) em 93 solicitações, destas 79 (85%) foram negativas e 14 (15%) foram positivas, efetuadas no período de 16 de abril de 2004 a 20 de Abril de 2006 no laboratório de Imunologia Clínica do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago.

Quando foram analisados os resultados para pesquisa de p-ANCA, encontramos 14 resultados positivos e 22 negativos, o equivalente a 39% e 61%, respectivamente, dos exames solicitados (Fig. 3).

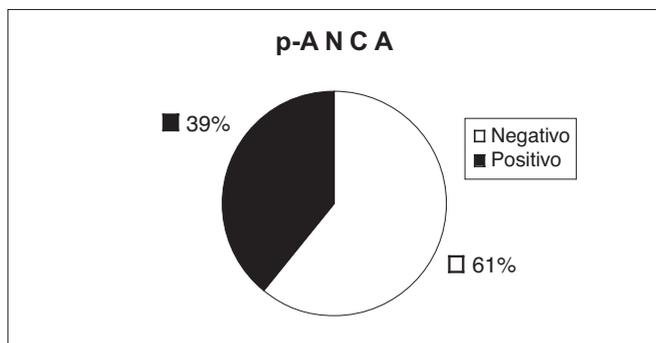


Figura 3. Resultados da avaliação de auto-anticorpos antiantígenos citoplasmáticos de neutrófilos padrão perinuclear (p-ANCA) em 36 solicitações, destas 22 (61%) foram negativas e 14 (39%) foram positivas no período de 16 de abril de 2004 a 20 de Abril de 2006 no laboratório de Imunologia Clínica do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago.

DISCUSSÃO

Apesar do inquestionável reconhecimento e significado clínico do Anticorpo anticitoplasma de neutrófilo (ANCA) no diagnóstico de diversas patologias já descritas no presente trabalho, problemas no uso em larga escala deste ensaio na rotina laboratorial ainda são relatados (KYNDT *et al.* 1999; Schmitt, 2004).

O primeiro deles se refere à presença de múltiplos antígenos reconhecidos por ANCA (existem pelo menos seis antígenos ANCA identificados e muitos estão ainda sem identificação). Apesar de apenas dois destes (Proteinase 3 e Mieloperoxidase) terem significância clínica comprovada, o fato do ANCA se ligar a outros antígenos é às vezes interpretado erroneamente em um diagnóstico clínico (Schmitt, 2004; MENZEL, 2005).

Outro problema se refere à falta de padrões devidamente estabelecidos positivos para ANCA, o que prejudica de maneira importante a interpretação dos resultados em determinadas situações (Schmitt, 2004).

No levantamento do número total de exames para ANCA (c-ANCA e p-ANCA) no período de 16 de abril de 2004 a 20 de Abril de 2006 pôde-se constatar que dos mesmos, apenas 22% apresentaram-se positivos em casos de suspeita de doença auto-imune por ANCA, o que acreditamos ser o propósito principal da requisição do exame por parte do clínico. Tais valores seguramente provêm da grande gama de doenças e suas respectivas sintomatologias associadas à presença de ANCA, as quais foram consideradas e em sua maioria (78%) descartadas no momento do estabelecimento de um diagnóstico para os pacientes avaliados neste trabalho.

Quando analisados isoladamente os resultados para pesquisa de c-ANCA foram de 15% positivos. Já quanto ao levantamento dos resultados de p-ANCA pudemos constatar uma maior incidência de resultados positivos (39%) em relação a c-ANCA.

A presença de ANCA está presente em até 70% de pacientes com lupus eritematoso sistêmico e em menor frequência em outras colagenoses como a esclerodermia, a síndrome de Sjögren e a conectivopatia indiferenciada (MERKEL *et al.*, 1997). Correspondem quase sem exceção a um padrão p-ANCA ou atípico, habitualmente sem reatividade para a PR3 e nem para a MPO, sem elucidação do significado clínico (MERKEL *et al.*, 1997). A positividade dos fatores antinúcleo (FAN) pode dar lugar a resultados falsos positivos na determinação dos ANCA, resultando num padrão perinuclear p-ANCA (SAVIGE *et al.*, 1999).

Este resultado enfatiza o papel deste teste não apenas no processo de confirmação, mas também no de eliminação do diagnóstico de doenças relacionadas à ANCA, como por exemplo, a vasculite sistêmica. Em conjunto os dados obtidos neste trabalho indicam para o importante papel do ponto de vista clínico e certamente interessante do ponto de vista científico dos ANCAs, no diagnóstico de doenças como a Granulomatose de Wegner (GW) e a Glomerulonefrite necrosante porém limitado para outras doenças vasculares auto-imunes.

Desta forma cabe ressaltar a necessidade do levantamento e interpretação minuciosa de todos os achados do paciente antes de se finalizar qualquer diagnóstico para o quadro clínico do mesmo. Pois só uma minoria de pacientes com ANCA tem uma vasculite associada à ANCA ou a uma glomerulonefrite progressiva pauciimune, sendo que a presença de um padrão c-ANCA é excepcional sem estas entidades. Para concluir sempre temos que considerar que as técnicas e as metodologias para a determinação dos ANCA influem na sua sensibilidade e especificidade.

REFERÊNCIAS

1. CZERNOK, E. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies and pathogenesis of small vessel vasculitides. *Autoimmunity Reviews*. v.1, p.158-164, 2002.
2. CSERNOK, E.; AHLQUIST, D.; ULLRICH, S.; GROSS, W.L. A critical evaluation of commercial immunoassays for antineutrophil cytoplasmic antibodies directed against proteinase 3 and myeloperoxidase in Wegener's granulomatosis and microscopic polyangiitis. *Rheumatology*. v.41, p.1313-1317, 2002.
3. HAGEN, E.C.; DAHA, M.R.; HERMANS, J.; ANDRASSY, K.; CSERNOK, E.; GASKIN, G.; LESAVRE, P.; LÜDEMANN, J.; RASMUSSEN, N.; SINICO, R. A.; WIJK, A.; VAN DER WOUDE, F.J. Diagnostic value of standardized assays for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in idiopathic systemic vasculitis. *Kidney international*. v.53, p.743-753, 1998.
4. HARPER, L.; WILLIAMS, J.M.; SAVAGE, C.O. The importance of resolution of inflammation in the pathogenesis of ANCA-associated vasculitis. *Biochemical Society Transactions*. v.32, p.502-506, 2004.
5. JAYNE, D. How to induce remission in primary systemic vasculitis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. v.19, p. 293-305, 2005.
6. JENNETTE, J.C.; FALK, R.J.; ANDRASSY, K.; BACON, P.A.; CHURG, J.; GROSS, W.L.; HAGEN, E.C.; HOFFMAN, G.S.; HUNTER, G.G.; KALLENBERG, C.G. Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis and Rheumatism*. v.37, p. 187-192, 1994.
7. KARIM, A.R. Antineutrophil antibodies (ANCA). Birmingham : University of Birmingham, 2004. Disponível em: <<http://www.iibham.ac.uk/clinicalimmunology/CISimagelibrary/ANCA.htm>>. Acesso em: 25 set. 2005.
8. KYNDT, X.; REUMAUX, D.; BRIDOUX, F.; TRIBOUT, B.; BATAILLE, P.; HACHULLA, E.; HATRON, P.Y.; DUTHILLEUL, P.; VANHILLE, P. Serial measurements of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in patients with systemic vasculitis. *The American Journal of Medicine*. v.106, p.527-533, 1999.
9. MENZEL, A.R. ANCA – Imunofluorescência. Rio de Janeiro: MEDIVAX, 2005. Disponível em: <<http://www.medivax.com.br/bulas/ancatotal.htm>>. Acesso em: 25 set. 2005.
10. MERKEL, P.A.; POLISSON, R. P.; CHANG, Y. C.; SKATES, S. J.; NILES, J. L. Prevalence of antineutrophil cytoplasmic antibodies in a large inception cohort of patients with connective tissue disease. *Ann. Intern Med.*: 126: 866-73. 1997.
11. POLLOCK, W.; CLARKE, K.; GALLAGHER, K.; HALL, J.; LUCKHURST, E.; MCEVOY, R.; MELNY, J.; NEIL, J.; NIKOLOUTSOPOULOS, A.; THOMPSON, T.; TREVISIN, M.; SAVIGE, J. Immunofluorescent patterns produced by antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) vary depending on neutrophil substrate and conjugate. *Journal of clinical pathology*. v.55, p.680-683, 2002.
12. ROVEL-GUITERA, P.; DIEMERT, M.C.; CHARUEL, J.L.; LAPORTE, J.L.; MUSSET, L.; CHOSIDOW, O.; PIETTE, J.C.; FRANCÉS, C. IgA antineutrophil cytoplasmic antibodies in cutaneous vasculitis. *British Association of Dermatologists*. v.143, p. 99-103, 2000.
13. RUSSELL, K.A.; WIEGERT, E.; SCHROEDER, D.R.; HOMBURGER, H.A.; SPECKS, U. Detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies under actual clinical testing conditions. *Clinical Immunology*. v.103, p.196-203, 2002.
14. SAVAGE, C.O.S. The evolving pathogenesis of systemic vasculitis. *Clin Med JRCPL*. v.2, p.458-64, 2002.
15. SAVIGE, J. A.; PASPALIARIS, B.; SILVESTRINI, R.; DAVIES, D.; NIKOLOUTSOPOULOS, T.; STURGESS, A.; NEIL, J.; POLLOCK, W.; DUNSTER, K.; HENDLE, M. A review of immunofluorescent patterns associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and their differentiation from other antibodies. *Journal of Clinical Pathology*. v.51, p.568-575, 1998.
16. SAVIGE, J., GILLIS, D., BENSON E. INTERNATIONAL CONSENSUS ON TESTING AND REPORTING OF ANTINEUTROPHIL CYTOPLASMIC ANTIBODIES (ANCA). *AM. J. CLIN. PATHOL* 11:507-13.1999.
17. SCHMITT, W. H.; VAN DER WOUDE, F.J. Clinical applications of antineutrophil cytoplasmic antibody testing. *Current opinion in rheumatology*. v. 16, p.9-17, 2004.
18. STEGEMAN, C.A. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) levels directed against proteinase-3 and myeloperoxidase are helpful in predicting disease relapse in ANCA-associated small-vessel vasculitis. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*. v.17, p.2077-2080, 2002.
19. VAN DER WOUDE, F.J. Taking anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) testing beyond the limits. *Nephrology, dialysis, transplantation*. v.12, p.2081-2083, 2002.
20. WIJK, A. Rational use of ANCA in the diagnosis of vasculitis. *Rheumatology*. v.41, p.481-483, 2002.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Dr^a Raquel Maria Teixeira

Universidade Federal de Santa Catarina - Centro de Ciências da Saúde - Departamento de Análises Clínicas-Campus Universitário - Trindade CEP 88 040 970 - Florianópolis - SC.

Fone: (048) 3331 9712 (Secretaria)

Fax: (048) 3331 9542 (Secretaria do CCS)

E-mail: deptoac@ccs.ufsc.br

Web: www.ccs.ufsc.br/analises

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 da eficácia das reações de imunofluorescência indireta e hemoaglutinação indireta na investigação sorológica para toxoplasmose em parturientes e recém-natos*

Efficacy evaluation of the indirect immunofluorescence and indirect hemagglutination reaction in pregnancy and new-born serologic toxoplasmosis investigation

Roberto Chaves de Vasconcelos¹; Janaína Chaves Câmara (MSc)¹; Dany Geraldo Kramer Cavalcanti e Silva (MSc)^{1,2}; Rosa Maria Vaz (MD)³; Valéria Cristina Ribeiro Dantas (MSc)⁴; Ligiane Revoredo Bezerra da Cunha Lima⁴; Valéria Soraya de Farias Sales (MD, MSc, PhD)⁵ & Geraldo Barroso Cavalcanti Júnior (MSc, PhD)⁵

RESUMO - A toxoplasmose é uma parasitose prevalente em todo o mundo, quando adquirida durante a gestação pode ser transmitida ao feto e causar, entre outros problemas, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, déficit visual e de audição. A prevenção da transmissão vertical deve ser iniciada antes da concepção ou o mais precocemente possível durante o exame pré-natal. Neste trabalho, foi realizado um estudo objetivando a avaliação da soroprevalência da toxoplasmose em parturientes e seus recém-natos (RN), atendidos na Maternidade Escola Januário Cicco da UFRN, através de um estudo comparativo entre as técnicas da hemoaglutinação indireta (HAI) e a imunofluorescência indireta (IFI). Paralelamente, também, se procurou padronizar a técnica de IFI, utilizando-se a coleta de sangue capilar com impregnação em papel de filtro. Das amostras sanguíneas de 63 parturientes e respectivos RN avaliadas por IFI, obteve-se uma reatividade para toxoplasmose de 30,2% e de 3,2%, respectivamente. A utilização da IFI empregando-se a coleta de sangue capilar com impregnação em papel de filtro apresentou baixa sensibilidade (71,4%), mostrando a necessidade de se intensificar os estudos para completar a padronização desse método. No entanto, foi observada uma boa correlação entre a IFI e a HAI. Os casos de IFI para cadeia pesada das imunoglobulina humana (IgH) apresentaram elevados títulos para IgG específica na maioria dos casos, sendo que três destes apresentaram reatividade para a IgM. Estes dados mostram a importância da investigação sorológica para toxoplasmose nesse grupo de pacientes.

PALAVRAS-CHAVE - Toxoplasmose, reação de imunofluorescência indireta e reação de hemoaglutinação indireta.

SUMMARY - The toxoplasmosis, a prevalent parasitosis throughout the world, when acquired during pregnancy can be transmitted to the fetus and cause, among other problems, delay in the neuropsychomotor development, visual deficiency and audition loss. In this work, a study was accomplished aiming at the evaluation of the seroprevalence of the toxoplasmosis in parturients and your new born (NB) from Maternidade Escola Januário Cicco of UFRN, through a comparative study among the techniques of the indirect hemagglutination (IHA) and the indirect immunofluorescence (IIF). In this work, a study was accomplished aiming at the evaluation of the toxoplasmosis seroprevalence in parturients and your NB, from Maternidade Escola Januário Cicco in the UFRN, through a comparative study among IH and the IIF. In parallel we also tried to standardize the technique of IIF, being used the collection of capillary blood with impregnation in filter paper. In the blood samples of 63 parturient and respective NB bay IIF, it was obtained a toxoplasmosis seroreactivity for s of 30.2% and in 3.2% respectively. The use of IIF being used the collection of capillary blood with impregnation in filter paper showed low sensibility (71.4%), showing the need to intensify the studies to complete the standardization of that method. However it went observing a good correlation between IIF and IH. The cases of IIF to total heavy immunoglobulin chain (IgH) presented high titles for specific IgG in most of the cases, and three of these presented IgM seroreactivity. These data show the importance of the serologic toxoplasmosis investigation for in that group of patient.

KEYWORDS - Toxoplasmosis, indirect immunofluorescence, indirect hemagglutination.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose mundialmente difundida, com maior incidência em regiões de clima quente e úmido, tendo como agente etiológico o *Toxoplasma gondii*. Esta infecção ocupa um lugar importante na medicina humana pelo seu aspecto endêmico, pois é de tal maneira propagada que milhares de pessoas podem se tornar imunes ao toxoplasma, como consequência de uma infecção assintomática¹⁻⁴. Contudo, duas categorias de indivíduos estão expostas a formas clínicas severas: o feto em desenvolvimento, por intermédio da mãe parasitada e indivíduos imunossuprimidos¹⁻⁴.

Em adultos saudáveis a toxoplasmose é subclínica na maioria dos casos, bem como na infecção congênita, tornando os

exames laboratoriais importantes no diagnóstico precoce dessa doença¹⁻³.

Nas gestantes, o *Toxoplasma gondii* pode causar uma infecção grave em cerca de 40% dos casos, causando aborto, natimortalidade ou seqüelas neurológicas e oculares no recém-nato (RN), podendo, também, se apresentar como um processo subclínico sem seqüelas^{1,2,5-9}. Quando a infecção por toxoplasma é adquirida pela mulher durante a gravidez, ou quando, durante este período, ocorre a reagudização da doença, há o risco de contaminação fetal, já que a placenta é atingida na fase de parasitemia, sendo observado um maior comprometimento fetal caso o processo infeccioso ocorra no primeiro trimestre da gestação^{1,2,5-9}.

A demonstração direta e/ou indireta do parasitismo pelo *Toxoplasma gondii* em órgãos ou tecidos humanos, muitas

Recebido em 29/06/2006

Aprovado em 24/05/2007

*Trabalho apresentado ao Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (DACT/UFRN) para elaboração de monografia de conclusão do Curso de Farmácia na habilitação de Farmacêutico-Bioquímico, Analista Clínico.

¹Ex-estagiários da Disciplina de Imunologia Clínica do DACT/UFRN e Farmacêutico-Bioquímicos do Hemocentro Dalton Cunha Bezerra – HEMONORTE; ²Ex-bolsista de iniciação científica da Disciplina de Imunologia Clínica do DACT/UFRN; ³Médica da Maternidade Escola Januário Cicco da UFRN; ⁴Farmacêutica-Bioquímica do Hospital Universitário Onofre Lopes da UFRN; ⁵Professores Adjunto da Disciplina de Imunologia Clínica do DACT/UFRN.

vezes, se torna difícil por necessitar de inoculação em animais ou métodos complexos e dispendiosos de detecção como as técnicas de biologia molecular¹⁻⁵.

O surgimento de anticorpos específicos anti-toxoplasma detectados após a soroconversão através dos testes sorológicos, traduz a resposta imune humoral à infecção adquirida^{1,4-5}. Graças a este fato, tem sido empregado rotineiramente a pesquisa de anticorpos específicos (IgG, IgA e IgM) no soro de indivíduos com suspeita de infecção pelo *Toxoplasma gondii*. Tais métodos têm grande utilidade não apenas no diagnóstico da toxoplasmose mas também, em inquéritos epidemiológicos sobre a prevalência dessa infecção e em exames pré-natais de gestantes visando a prevenção da toxoplasmose congênita⁴⁻⁵.

A dificuldade do diagnóstico sorológico nas pessoas com suspeita de toxoplasmose está na determinação da provável época da infecção, pois, muitas vezes, detecta-se a presença da IgG específica com títulos elevados já no primeiro exame com positividade também para a IgM e/ou IgA¹⁻⁵. No entanto, com a determinação dos níveis e classe de anticorpos é possível traçar três perfis sorológicos de acordo com o tempo de infecção. Na infecção recente (Perfil I), em que podem ser detectados sinais da doença aguda, é característica a presença de anticorpos da classe IgM que surge nas primeiras semanas com uma rápida elevação, diminuindo e desaparecendo em poucas semanas ou meses, podendo, no entanto, persistir títulos baixos de IgM residual em alguns pacientes por um tempo mais prolongado. O perfil II, fase de transição apresenta IgM positiva associada a elevados títulos de IgG. Por último, o Perfil III indicativo de infecção antiga e que geralmente persiste por toda a vida, sendo caracterizado pela presença de anticorpos IgG de alta avididade em baixos títulos e ausência de outros anticorpos, podendo ocasionalmente ser detectados resíduos de anticorpos da classe IgM². Nesta fase, devido à baixa da imunidade ou a distúrbios hormonais, o indivíduo infectado poderá sofrer uma reagudização da toxoplasmose, fato que assume grande importância em gestantes e indivíduos imunossuprimidos¹⁻⁵.

Diversas são as técnicas que podem ser empregadas no diagnóstico sorológico da toxoplasmose, destacando-se as reações de imunofluorescência indireta (IFI), a reação de hemoaglutinação indireta (HAI) e os métodos imunoenzimáticos (ELISA) úteis na pesquisa de avididade para IgG².

O teste de HAI, também conhecido como hemoaglutinação passiva, pode ser utilizado como método de triagem sorológica, visando detectar a presença de indivíduos reatores, devendo, portanto, ser realizado em associação a outros testes como a IFI-IgG / IgM ou ELISA-Captura-IgM, para a confirmação de infecções recentes, não sendo, no entanto indicado nos casos de infecção congênita ou diagnóstico de infecção aguda devido a possibilidade de ocorrência de resultados falso negativos².

A reação de IFI surgiu como técnica substituta para o teste clássico do corante proposto por Sabin e Feldman, por apresentar resultados similares, com a vantagem da praticidade e a possibilidade da identificação de anticorpos específicos das classes IgG, IgM ou IgA, sendo, ainda hoje, o método mais empregado no diagnóstico sorológico da toxoplasmose². Nesta técnica, toxoplasmas fixados em lâminas para reação de IFI, são incubados com soros previamente diluídos, por um tempo determinado. Após esta etapa inicial, as lâminas são lavadas e novamente incubadas com uma imunoglobulina direcionada contra a fração FC da cadeia pesada da imunoglobulina humana que pode ser do tipo *gama* (IgG), *mü* (IgM) ou *alfa* (IgA), conjugada ao

isotiocianato de fluoresceína (FITC). Os resultados quantitativos são expressos pela maior diluição reagente, ou seja, emissão de fluorescência verde dos toxoplasmas presentes na lâmina quando visualizadas no microscópio de imunofluorescência².

A reação de IFI também apresenta limitações, estando sujeita a resultados falsos positivos e negativos. A pesquisa de anticorpos do tipo IgG por este método é sensível e específica, mas artesanal; sua leitura é subjetiva e os resultados quantitativos são menos reprodutíveis do que os obtidos através dos testes automatizados. A pesquisa de anticorpos do tipo IgM anti-toxoplasma pode apresentar resultados falso-positivos pela interferência do fator reumatóide (FR) que eventualmente pode estar presente nas amostras. O FR liga-se à IgG específica presa ao antígeno, que é reconhecida pelo conjugado anti-IgM, na ausência de IgM específica anti-toxoplasma, de modo que todo resultado IgM positivo deverá ser confirmado, fazendo uma absorção prévia do FR antes de executar a técnica².

Os testes para anticorpos IgM também podem apresentar resultados falso-negativos em virtude da competição ou bloqueio dos anticorpos IgG (IgG *blocking*) aos anticorpos IgM. Esse problema pode ser evitado utilizando-se RF *absorbent* ou proteína A do *Staphylococcus aureus*².

OBJETIVOS

Em função da escassez de dados sobre a incidência da transmissão materno-fetal de toxoplasmose no estado do Rio Grande do Norte, este trabalho tem como objetivo realizar um estudo epidemiológico em parturientes e seus RN atendidos na Maternidade Escola Januário Cicco da UFRN, avaliando a soroprevalência para toxoplasmose nesses indivíduos utilizando comparativamente as técnicas de IFI e HAI.

Paralelamente, também, foi realizada uma padronização da reação de IFI através da técnica de coleta de sangue capilar com impregnação em papel de filtro, por ser esta uma técnica menos traumática na obtenção das amostras, avaliando-se a especificidade e a sensibilidade da mesma.

CASUÍSTICA E METODOLOGIA

1. Casuística

A população estudada foi constituída de 71 parturientes com idade variando de 15 a 42 anos e de 63 recém-natos (RNs), atendidos na Maternidade Escola Januário Cicco da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (MEJEC /UFRN). A escolha foi aleatória, compreendendo as mães e seus respectivos RN, tendo as amostras sido colhidas após a assinatura do termo de consentimento informado pelas mães.

2. Metodologia

2.1 Coleta das amostras

Amostras de sangue periférico das parturientes foram coletadas por punção venosa e acondicionados em tubos estéreis de tipo vacutainer sem anticoagulante (Becton Dickinson and Company, USA). Após a formação do coágulo, os tubos foram centrifugados a 1.500 rotações por minutos (RPM) por 5 minutos (Centrifuga sorológica, Fanen, Brasil), os soros foram separados da fase sólida, acondicionadas em tubos estéreis do tipo Eppendorf (Becton Dickinson and Company, USA), devidamente identificados e estocados em um freezer a -20° C até o momento das análises.

Nos RNs foram realizadas as coletas de sangue por punção

capilar no calcanhar através de microlancetas após esterilização da área com álcool a 70%. A amostra sanguínea foi impregnada igualmente na frente e no verso do papel de filtro devidamente identificado (Inlab nº 4; Brasil) cobrindo uma área de 6 cm, deixado secar em temperatura ambiente. Após a secagem, o papel de filtro foi armazenado em um recipiente ao abrigo de poeira, umidade e insetos, para posterior eluição em solução salina tamponada com fosfatos (*phosphate buffer saline* -PBS), visando à realização da reação de IFI.

2.2 Reação de imunofluorescência indireta (IFI)

2.2.1. Preparo das lâminas para os testes

A IFI foi realizada em lâminas de microscopia próprias para reação de imunofluorescência (Biolab-Mériex SA, Brasil). Inicialmente, realizou-se a reconstituição do antígeno liofilizado (*Toxoplasma gondii* / Cecon; Brasil), em 2 mL de água destilada estéril e homogeneizando por inversão. Após lavar, desengordurar e secar as lâminas, espalhou-se 10 µL da suspensão antigênica em cada área circular das lâminas, deixando-as secarem em estufa a 37°C (Fanen, Brasil) por 24 horas. Após esta etapa, as lâminas foram embaladas em papel alumínio e estocadas a -20°C até o momento das análises.

No momento das análises, as lâminas foram retiradas do freezer e descongeladas à temperatura ambiente por 15 minutos ainda sob proteção do papel alumínio. Após esse período, esta proteção foi então retirada, sendo realizada a identificação das mesmas.

2.2.1. Preparo das mostras

A. Amostras de soro

A reação de IFI quantitativa e qualitativa com as amostras de soro diluídas em PBS nas seguintes proporções: 1:16; 1:64; 1:128; 1:256, 1:1.024 e 1:4.096.

B. Amostras eluídas de papel de filtro

Para a padronização desse método foram coletadas amostras de sangue de 30 parturientes, tanto por punção venosa como por punção capilar, cujos resultados reatores serviram como resultados padrão para a avaliação da sensibilidade e especificidade para o método da IFI, a partir de sangue capilar eluídas de papel de filtro.

O papel de filtro contendo amostras secas de sangue dos RN e respectivas mães foi picotado com perfurador de papel na forma de pequenos discos de 5mm de diâmetro. Empregou-se 2 discos de cada amostra que foram eluídos em 200µL e 400µL de PBS estéril por 24 horas a temperatura ambiente.

2.2.2. Reação de imunofluorescência indireta

Recobriram-se os círculos das lâminas previamente identificadas e contendo *Toxoplasma gondii* com soros diluídos e / ou eluídos.

No teste qualitativo foi utilizado 20µL da diluição 1:64, visando o preenchimento das áreas circulares contendo o antígeno. As lâminas foram colocadas em câmara úmida e incubadas em uma estufa a 37° C por 30 minutos.

Após este período, as lâminas foram retiradas da estufa e rinsadas com PBS e incubadas por 5 minutos em uma jarra de Coplin contendo água destilada, procedendo-se a secagem das mesmas.

Adicionou-se sobre cada orifício das lâminas 20 µL do conjugado (imunoglobulina de cabra anti fração FC da cadeia pesada da imunoglobulina humana, marcada com isotiocianato de fluoresceína (FITC) (Fluoline H, Biolab-Mériex SA, Brasil), previamente diluído na proporção de 1:100 em

uma solução contendo 1 mg de azul de Evans, diluído em PBS. As lâminas foram incubadas novamente em câmara úmida a 37°C por 30 minutos.

Após esta etapa, as lâminas foram retiradas da estufa e novamente rinsadas com PBS e incubadas por 5 minutos em uma jarra de Coplin contendo água destilada, procedendo-se em seguida, a secagem das lâminas com papel absorvente e jato de ar. Sobre as mesmas foram adicionadas lâminulas em glicerina tamponada pH 8,7 e examinadas em um microscópio dotado de luz ultravioleta, utilizando objetiva de 40x e imersão, com filtros para FITC e filtro barreira laranja (Olimpus modelo BX41, Brasil).

Para o teste quantitativo, empregaram-se as diluições dos soros: 1:64; 1:128; 1:256; 1:1.024 e 1:4096, visando a pesquisa de anticorpos da classe IgG e 1:64; 1:128 e 1:256 para os da classe IgM, seguindo a mesma metodologia para o teste qualitativo, empregando como conjugado imunoglobulina de cabra anti-fração FC da imunoglobulina IgG e IgM humana marcada com FITC (Fluoline G e M, Biolab-Mériex SA, Brasil).

Nas amostras obtidas por eluato, empregou-se 20 µL para a IFI que foi realizada seguindo a técnica da IFI qualitativa anteriormente citada.

As amostras foram consideradas reagentes quando os toxoplasmas fixados na lâmina apresentaram fluorescência em toda a periferia e negativa quando os mesmos apresentaram ausência de fluorescência ou a mesma ficava localizada apenas na extremidade dos parasitas (reação polar).

2.2 Reação de hemaglutinação indireta (HAI)

Para a reação de HAI empregou-se o kit HAI-Toxo (Cecon-Brasil), seguindo todas as especificações do fabricante.

Uma hora antes da execução da técnica, procedeu-se a reconstituição do liofilizado sensibilizado com extrato solúvel do trofozoito de *Toxoplasma gondii*, utilizando-se 0,065 mL de diluente de hemácias.

Procedeu-se o teste de triagem. Para isso, foi feita uma diluição de 1:64 dos soros a serem examinados e também soros controles positivos e negativos, presentes no kit.

Em placa de microtitulação com poços de fundo em "V", foi pipetado 0,05mL dos soros diluídos em cada poço. Em seguida, adicionou-se 0,025mL dos reagente de hemácias, agitando-se suavemente a microplaca. A leitura foi realizada após 2 horas de incubação à temperatura ambiente em um local isento de vibração. Considerou-se reagente quando ocorreu a aglutinação, ou seja, a formação de malha ou tapete que cobre o fundo da placa e não reagente, quando ocorreu a formação de um botão de hemácias no fundo da cavidade.

2.3. Análise estatística

Os dados obtidos neste trabalho foram analisados por diferentes testes estatísticos e gráficos.

Para comparação dos resultados da HAI e IFI, empregou-se o teste do qui quadrado através do *software* estatístico *Statistic Pack for Social Sciences* (SPSS for Windows versão 9.0; Copyright © SPSS, INC), sendo considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

Para análise da correlação da HAI e os títulos de IgG anti toxoplasma, empregou-se o gráfico de dispersão, correlacionado-se os testes de HAI reatores e não reatores com diferentes títulos de IgG obtidos pela IFI, empregando o *software Microsoft Excel 2000 versão 9.0*, tendo sido também procedida a análise estatística através do teste Wilcoxon também através do *software* SPSS for Windows versão 9.0.

Para validação da técnica da IFI realizada em eluatos de sangue capilar, foram realizadas a comparações dos resul-

tados da IFI-IgH dos eluatos com a IFI-IgH realizado em amostras de soro da mesma parturiente obtida por punção venosa os quais foram submetidos ao teste de sensibilidade e especificidade¹⁵.

RESULTADOS

Na análise dos soros das 71 parturientes por IFI-IgH, vinte casos (28,2%) apresentaram reatividade ($\geq 1:256$). Houve predomínio nas mulheres com faixa etária compreendida entre 20 a 25 anos e 26 a 30 anos com 09 e 07 casos respectivamente (Tabela I).

Quando comparado os resultados da IFI-IgH realizadas em soro de 30 parturientes com a mesma reação em eluatos de sangue capilar impregnado em papel de filtro das mesmas pacientes, observou-se que 7/30 amostras obtidas por punção venosa (23,3%) mostraram-se reatores. Os resultados reagentes e não reagentes das amostras analisadas nos soros nesse grupo de 30 mulheres serviram então como padrão de referência "verdadeiro Positivo" (VP) e "verdadeiro negativo" (VN) para o cálculo da sensibilidade e especificidade (Quadro 1), visando a padronização da IFI em amostras de sangue capilar eluídas em 200 e 400 μ L de PBS respectivamente. Observou-se resultados mais próximos aos obtidos em amostras testadas em soro nos discos eluídos em 200 μ L de PBS quando comparados com as mesmas amostras eluídas em 400 μ L de PBS, obtendo-se reatividade em 5 e 2 casos respectivamente, refletindo desta forma em uma maior sensibilidade para as amostras eluídas em 200 μ L de PBS quando comparadas com as amostras testadas eluídas em 400 μ L de PBS (Tabelas II, III e IV). A correlação entre os resultados da HAI e IFI mostrou-se estatisticamente significativa (Tabela V) e na análise da associação entre os resultados da HAI e os níveis de IgG por IFI nas amostras de parturientes constatou-se que destas, 24 (22,8%) foram reagentes para a HAI e 47 (66,2%) não reagentes. Observou-se correlação entre os testes de HAI reatores e títulos elevados de IgG pela IFI em 20 casos, com a seguinte distribuição: 2 casos com títulos de 1:4.096, 4 com títulos de 1:1024, 7 com títulos de 1:256, 7 com títulos de 1:64 e 4 amostras destes grupos apresentaram ausência de reatividade pra IFI-IgG (Figura 1).

Nas parturientes com IFI-IgH sororeagentes, a pesquisa de anticorpos IgG específicas variaram de 1:64 a 1:4.096, distribuídas da seguinte forma: 6 casos (9,52%) com títulos de 1:64, 8 (12,7%) com títulos até 1:256; 3 (4,76%) até 1:1024 e 2 (3,18%) apresentaram títulos até 1:4.096, apresentando também estas duas últimas amostras, a presença de anticorpos do tipo IgM (Figura 2).

A correlação entre a sororeatividade amostras de 63 parturientes e seus respectivos RNs foram analisados através da IFI-IgH. Do total das amostras das parturientes analisadas no soro, 19 (30,16%) foram reatores. As análises das amostras dos RNs a partir de sangue capilar impregnado em papel de filtro e eluídas em 200 μ L de PBS, apresentou reatividade em 2 casos (3,2%), correspondendo a RNs de mães sororeagentes pela IFI (Tabela VI).

Teste	Doença – Diagnóstico Verdadeiro		
	Positivo	Negativo	Total
IFI-IgH reagente	Verdadeiro Positivo (VP)	Falso Positivo (FP)	VF+FN
IFI-IgH não reagente	Falso Negativo (FN)	Verdadeiro Negativo (VN)	FN+VN
Total	VP+FN	FP+VN	VF+FN+FP+VN

SENSIBILIDADE (S) = $(VP/VP+FN) \times 100$
 ESPECIFICIDADE (E) = $(VN/VN+FP) \times 100$
 Baseado em Ferreira AW; Ávila SLM¹⁵ com modificações.

Quadro 1- Combinação binária entre os resultados obtidos no teste da imunofluorescência indireta para toxoplasmose em amostras de soro de parturientes, visando o cálculo de especificidade e sensibilidade de amostras colhidas em sangue capilar das mesmas pacientes.

TABELA I

Resultados das reações de imunofluorescência indireta para a pesquisa de imunoglobulina total (IFI-IgH) anti *Toxoplasma gondii* em 71 parturientes na faixa etária compreendida entre 15 a 45 anos de idade atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco da UFRN.

Faixa etária (anos)	IFI-IgH Reagente
	n ⁺ /n ^t (%)
15 - 19	02 / 16 (12,5)
20 - 25	09 / 26 (34,6)
26 - 30	07 / 17 (41,2)
31 - 35	02 / 06 (33,3)
≥ 36	00 / 06 (-)
Total	20 / 71 (28,2)

(n⁺) número de casos reagentes; (n^t) número de casos testados; (%) percentual de casos reagentes.

TABELA II

Resultados obtidos da sorologia para toxoplasmose pela reação de imunofluorescência indireta (IFI-IgH) utilizando amostras oriundas de sangue total e capilar colhidas em papel de filtro e eluídas em 400 e 200 μ L de PBS de 30 parturientes.

Amostras	IFI - IgH	
	Reativo n ⁺ (%)	Não reativo n ⁻ (%)
Soro	07 (23,3%)	23 (66,7%)
Eluato (2 discos p/ 400 μ L de PBS)	02 (6,7%)	28 (66,7%)
Eluato (2 discos p/ 200 μ L de PBS)	05 (16,7%)	25 (83,3%)

TABELA III

Análise do cálculo da sensibilidade e especificidade da técnica de eluição de sangue capilar com 400 μ L de PBS, tendo como padrão a técnica convencional de imunofluorescência indireta realizada em amostras de soro das mesmas parturientes.

Eluato (2 discos p/ 400 μ L de PBS)	Soro		
	Reativo	Não Reativo	Total
Reativos	VP = 02	FP = 00	VP+FP = 02
Não reativos	FN = 05	VN = 23	FN+VN = 28
Total	VP+FN = 07	FP+VN = 23	VP+FN+FP+VN = 30

SENSIBILIDADE (S) = $(VP/V P+FN) \times 100 \rightarrow S = (2/2+5) \times 100 = 28,6\%$

ESPECIFICIDADE (E) = $(VN/VN+FP) \times 100 \rightarrow E = (23/23+00) \times 100 = 100\%$

*) Baseado em Ferreira AW; Ávila SLM¹⁵ com modificações.

VP) Verdadeiro Positivo; (FP) Falso Positivo; (FN) Falso Negativo; (VN) Verdadeiro Negativo

TABELA IV

Análise do cálculo da sensibilidade e especificidade da técnica de eluição de sangue capilar com 200µL de PBS, tendo como padrão a técnica convencional de imunofluorescência indireta realizada em amostras de soro das mesmas parturientes.

Eluato (2 discos p/ 200µL de PBS)	Soro		
	Reativo	Não Reativo	Total
Reativos	VP= 05	FP= 00	VP+FN =05
Não Reativos	FN= 02	VN= 23	FP+VN =25
Total	VP+FN= 07	FP+VN= 23	VP+FN+FP+VN= 30

* SENSIBILIDADE (S) = (VP/VP+FN) x 100 → S = (05/02+05)x100 = 72,6%

* ESPECIFICIDADE (E) = (VN/VN+FP) x 100 → E = (23/23+00)x100 = 100%

(*) Baseado em Ferreira AW; Ávila SLM¹⁵ com modificações.

(VP) Verdadeiro Positivo; (FP) Falso Positivo; (FN) Falso Negativo; (VN) Verdadeiro Negativo

TABELA V

Associação entre os resultados dos dois métodos

Imunofluorescência indireta	Hemoaglutinação indireta		P*
	Positivo n. (%)	Negativo n. (%)	
positivo	21	00	< 0,0000
negativo	03	47	

(*) Teste do qui-quadrado

TABELA VI

Resultados obtidos da pesquisa da anticorpos anti-toxoplasma gondii em 63 parturientes e seus recém natos atendidos na Maternidade Escola Januário Cicco da UFRN pela técnica da imunofluorescência indireta.

Resultados (IFI-IgH)	Parturientes (*)	Recém-Natos (**)
Reagente	19 (30,2%)	2 (3,2%)
Não Reagente	44 (69,8%)	61 (96,8%)
Total analisados	63 (100%)	63 (100%)

(*) resultados obtidos em amostras de soro

(**) resultados obtidos a partir eluatos de 2 discos p/ 200µL de PBS

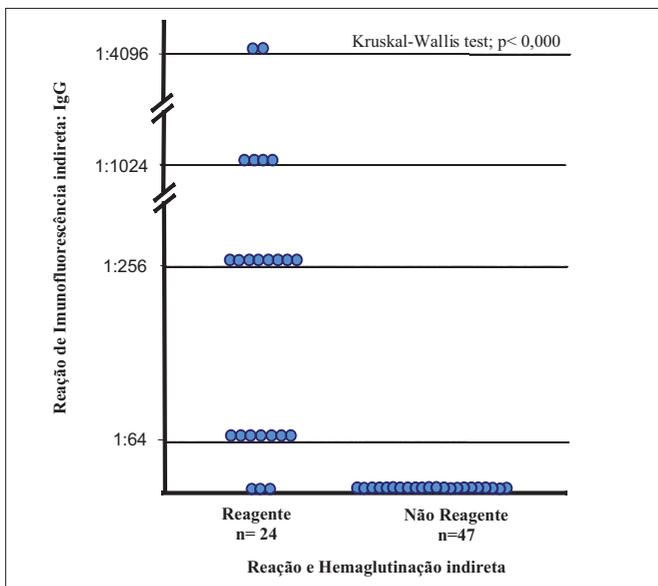


Figura 1- Correlação entre os resultados da hemaglutinação indireta para toxoplasmose e títulos de IgG específica, determinado pela reação de imunofluorescência indireta em 71 amostras de parturientes atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco da UFRN.

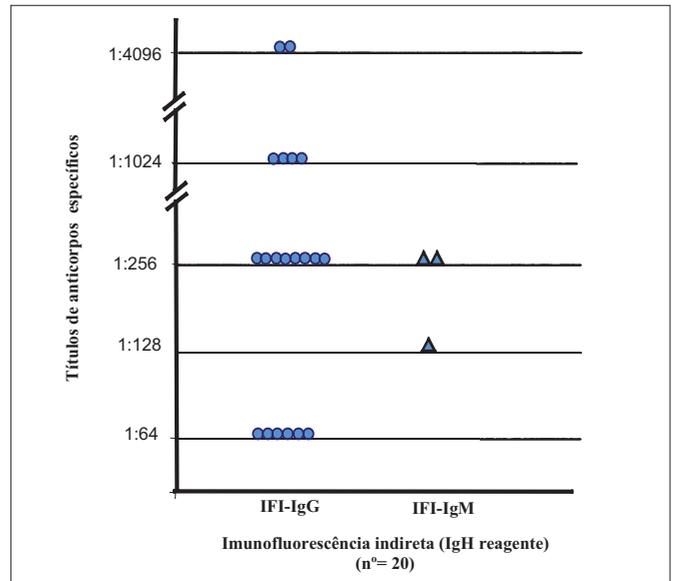


Figura 2- Correlação entre títulos de IgG e IgM específica em 20 amostras de parturientes sororeagentes para toxoplasmose determinada pela reação de imunofluorescência indireta para imunoglobulinas total

DISCUSSÃO

A infecção pelo *Toxoplasma gondii* apresenta alta prevalência na população mundial que revelada pela pesquisa dos anticorpos séricos chegam a atingir 30, 50 ou até 90% dos indivíduos adultos, variando de acordo com a região estudada^{1-2, 17}. A utilização de testes sorológicos para a demonstração de anticorpos específicos para o *Toxoplasma gondii* é um método diagnóstico eficaz capaz de avaliar a imunidade ao parasita em condições especiais tais como na gestação, antes da terapia imunossupressora e após um resultado de um teste HIV positivo^{2, 16}. A literatura relata que a prevalência da toxoplasmose aumenta com a idade, existindo outros fatores que também são responsáveis por esta variação tais como: hábitos alimentares, o nível sócio econômico e diferenças geográficas de cada região^{1-3, 17}.

Em estudos soroepidemiológicos realizados em diversos países observou-se que nos EUA a prevalência em adultos com mais de 50 anos encontra-se entre 30 a 40%¹⁷; na França, avaliou-se que 65 a 80% das mulheres estão infectadas¹⁸ e na Espanha em um estudo realizado em diferentes grupos populacionais, encontrou-se uma prevalência de 33,1% em regiões litorâneas onde a alimentação era a base de peixe e nas zonas rurais onde predominava os hábitos carnívoros a prevalência foi de 62,9 %⁵. Em Cuba, inquéritos sorológicos demonstraram uma prevalência de 71%, sendo mais predominante em mulheres da zona rural, que tinham maior contato com gatos¹⁹. Entretanto, no Brasil, país extenso, com clima e condições socioculturais distintas, observa-se porcentagem de positividade com variação de 20 a 83% da população, com evidências sorológicas de infecção pregressa, apresentando os seguintes índices de infecção: observou-se 71% em Manaus e 67% no Amapá, 52% entre os índios no alto Xingu e 65% em Roraima; no baixo e médio São Francisco, 37%; no Rio de Janeiro, 79%; e em São Paulo, 68%¹⁷.

Neste trabalho, constatou-se resultados similares com os acima relatados com sororeatividade em 30,2% das parturientes examinadas, com reatividade para imunoglobulina

total realizada por IFI e HAI, apresentando também com elevados títulos de IgG específica, levando-se em consideração que as parturientes atendidas na MEJEC/UFRN, apresentavam baixa condição sócio econômica.

Visando obter dados da sensibilidade e especificidade da técnica de coleta de sangue capilar, procedeu-se a análise comparativa dos resultados obtidos pela reação de IFI-IgH em amostras obtidas por punção venosa com os observados nas mesmas amostras procedentes de sangue capilar.

A sensibilidade e a especificidade de um teste podem ser calculadas utilizando populações de indivíduos com e sem a doença em relação à finalidade do teste ou por comparação com um teste de referência¹⁵, que no presente estudo foram empregadas às amostras obtidas por punção venosa. A sensibilidade de um teste sorológico indica a frequência de resultados verdadeiramente positivos em pacientes com uma doença em particular, ou seja, a proporção dos verdadeiros positivos¹⁵. A especificidade de um teste sorológico indica a frequência de resultados negativos em pacientes sem a doença, ou seja, a proporção dos verdadeiros negativos¹⁵. A avaliação da sensibilidade e especificidade de um teste podem ser calculadas de acordo com a fórmula contida no quadro¹.

Obteve-se um total de sororeatividade em 7 amostras da reação feita a partir do soro, em 5 amostras no sangue capilar impregnado em papel de filtro eluído em 200µL de PBS e 2 amostras quando as mesmas foram diluídas em 400µL de PBS, demonstrando, dessa forma, a baixa sensibilidade para as amostras eluídas em 400µL de PBS (28,6%). Esta sensibilidade, no entanto, aumentou consideravelmente quando as amostras de sangue capilar impregnadas no papel de filtro foram eluídas em um volume menor de PBS (200µL), o que possibilitou uma maior concentração dos eluatos e, conseqüentemente, maiores níveis de anticorpos na solução, aumentando a positividade para 5 casos e a sensibilidade para 71,4% (Tabelas II, III e IV).

De acordo com o trabalho realizado por ADES *et al* (1993) sobre a soroprevalência da toxoplasmose em neonatos, utilizando-se a coleta de sangue capilar com absorção em papel de filtro para análise pelo método "látex-aglutinação" modificado, apresentou 98,8% de sensibilidade¹³. Conclui-se que o método executado no presente artigo apresentou menor sensibilidade quando comparado com o método desenvolvido por ADES e colaboradores. Fica, no entanto, a possibilidade de padronização desse método, sendo, no entanto necessário intensificar os estudos, levando-se em conta outros fatores, tais: como o aumento do número de amostras, o diâmetro dos discos de papel, o volume do eluente, o tempo de eluição, o tipo de papel de filtro, a temperatura e o tempo de armazenamento das amostras, objetivando o aumento da sensibilidade dessa técnica para poder então ser empregada na rotina com total segurança da mesma forma que em outros exames laboratoriais para doenças congênitas¹⁴.

Outro dado animador para a continuidade da padronização dos testes em sangue capilar foi a ausência de resultados falso-reativo, o que apontou para uma boa especificidade do teste, quando realizados nas duas condições.

É importante salientar que a sensibilidade e a especificidade são parâmetros antagônicos. Quando se eleva a sensibilidade, reduz-se a especificidade e vice-versa. Definir-se o que é melhor, ter alta sensibilidade ou alta especificidade deve ser feito levando-se em conta a finalidade do teste, as vantagens

do diagnóstico, a gravidade e a prevalência da doença¹⁵.

Desta forma, com relação a soroprevalência nos RN, não se pode discutir com detalhes, em virtude da técnica de IFI realizada a partir de eluato de sangue em papel de filtro ainda se apresentar em fase de padronização. Apesar disso, foi observado que as duas amostras reagentes eram de RN filhos de mães com altos títulos para IgG e IgM.

É importante lembrar que os anticorpos da classe IgG passam passivamente através da placenta e, portanto, sua presença no recém-nascido (RN) ou no lactente jovem pode refletir apenas a infecção materna. Por outro lado, a persistência de IgG positiva, ao final do primeiro ano de vida, ou a elevação dos seus títulos, no primeiro ano de vida, ou a elevação dos seus títulos, nos primeiros meses e / ou a persistência de IgM específica após o 5º dia de vida confirmam a infecção na criança⁶.

De acordo com a literatura, a HAI é um método rápido, de fácil execução, que, no entanto, apresenta baixa sensibilidade nas fases iniciais da infecção, sendo uma técnica baseada na aglutinação provocada pela presença de anticorpos específicos direcionados contra antígenos do *Toxoplasma gondii* adsorvidos em hemácias de aves.

Nos períodos mais tardios da infecção, os níveis de anticorpos específicos tendem a se elevar, aumentando a sensibilidade desse teste. No entanto, a especificidade é reduzida, pois as aglutininas inespecíficas do tipo IgM podem proporcionar resultados falsos negativos, sendo, desta forma, a IFI o método mais adequado para ser utilizado no diagnóstico precoce graças a detecção de anticorpos específicos do tipo IgM presentes no início da infecção^{2-3, 6, 12-13}. Entretanto, quando realizada em associação com a IFI, a HAI pode possibilitar a identificação de casos agudos, através da acentuada disparidade de títulos de anticorpos entre ambos os testes, devido aos altos títulos de anticorpos anti-toxoplasma observados na IFI em relação a HAI em virtude da maior sensibilidade da IFI em relação a HAI^{3, 6}. Esta observação foi constatada no presente trabalho onde através da IFI, constatou-se títulos elevados de IgG anti-toxoplasma na maioria dos casos com HAI reagentes e concordância dos resultados não reagentes para ambas as técnicas em todos os casos (Figura 1). Também foi observado elevado similaridade entre IFI-IgH reagentes e títulos elevados de IgG na maioria dos casos (Figura 2).

CONCLUSÃO

A soroprevalência para toxoplasmose nas parturientes atendidas na MEJEC/UFRN é significativa, mostrando a importância desses testes nos exames pré-natal.

A reação de hemaglutinação indireta apresentou elevada sensibilidade, podendo, dessa forma, ser indicada para teste de triagem. No entanto, faz-se necessária a utilização de testes mais específicos como a reação de imunofluorescência indireta para o diagnóstico conclusivo e precoce da toxoplasmose.

Os resultados obtidos nos RN foram pouco conclusivos considerando o pequeno número de casos analisados e também pelo fato da técnica ainda encontrar-se em fase de implantação. No entanto, análises preliminares comparando resultados de amostras obtidas a partir de eluição com soro para a IFI apontam para a possibilidade de aumento da sensibilidade para o seu emprego com total segurança.

REFERÊNCIAS

1. Spaladore LG. In: Toxoplasmose, Editora Argônio Editora, Rio de Janeiro-RJ, 2005.
2. Camargo ME. Toxoplasmose in: Ferreira AW, Ávila SLM. Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes, 2ª Edição. Cap 27; pág 278-288; Editora Guanabara Koogan, 2001.
3. Nogueira AS; Moreira RB; Pereira NG. Toxoplasmose: diagnóstico e tratamento. J Brás Méd. 71 (2): 38-41, 1996.
4. Camargo ME. Diagnóstico laboratorial da toxoplasmose humana. Rev Bras Anál Clín. 21 (1) 3-11, 1989.
5. D'Agostinho LE. Diagnóstico serológico de toxoplasmosis. Acta Bioq Clin LA. 28 (3): 299-403, 1994.
6. Andrade GMQ; Carvalho AL; Carvalho IR. Toxoplasmose congênita-Orientação prática sobre prevenção e tratamento. Rev Med Minas Gerais. 14 (1 supl 3):S85-S91.
7. Amato Neto V; Levi GC. Toxoplasmose congênita. F Medica. 80 (3): 345-348, 1980.
8. Gavinet MF; Robert F; FIRTION G. et al. Congenital toxoplasmosis doe to maternal reinfection during pregnancy. J Clin Microbiol. 35:1276-1284, 1997.
9. Coutinho SG; Garcia AP; Amendoeira Mr et al. Detection of newborn at risk for congenital toxoplasmosis in Rio de Janeiro, Brasil. Rev Inst Med Trop. 25: 25-30, 1993.
10. Desmond G; Naot Y; Remington JS. Immunoglobulin M-sorbent agglutination assay for diagnosis of infectious diseases of acute congenital and acquired Toxoplasma infections. J Clin Microbiol. 14: 486-491, 1981
11. Camargo ME; Leser PG; Granato CH. Avidéz de anticorpos IgG específicos como marcadores de infecção primária recente para Toxoplasma gondii. Rev Brás Patol Clin. 13: 1-15, 1977.
12. Ades, AE. et al. Maternal prevalence of toxoplasma antibody based on anonymous neonatal serosurvey: a geographical analysis. Epidem Infection. 110 (1): 127-133, 1993.
13. Camargo ME. Avidéz de anticorpos IgG específicos como marcadores de infecção primária recente pelo Toxoplasma gondii. Rev Inst Med Trop. 33: 212-213, 1991.
14. Marrero N; González Y; Frometa A; Lethuga M. Estabilidade de tiroxina em manchas de sangue seco sobre papel de filtro. Impacto na pesquisa de hipotireoidismo congênito. News Lab. 26:52 – 60, 1997.
15. Ferreira AW; Ávila SLM. Sorologia: Importância e Parâmetros in: Ferreira AW, Ávila SLM. Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes, 2ª Edição. Cap 1; pág 1-8; Editora Guanabara Koogan, 2001.
16. Castro FC; Castro MJBV; Cabral ACV et al. Comparação dos métodos para diagnóstico da toxoplasmose congênita. RBGO. 23 (5): 277-282, 2001.
17. Kawazoe U. Toxoplasma gondii. In: Neves DP et al. Parasitologia Humana, 9a ed, Cap. 16, pág.174-187; Editora Ateneu, 1995.
18. Sanchez RM et al. Prevalence de infección toxoplasmica en gestantes de la provincia de la Habana. Rev Inst Med Trop SP. 36 (5): 445-450, 1994.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Geraldo Barroso Cavalcanti Júnior.
Disciplina de Imunologia Clínica; Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas; Faculdade de Farmácia; Centro de Ciências da Saúde / UFRN.
Rua General Gustavo Cordeiro de Farias S/N. Petrópolis
CEP: 59.010-180 Natal - RN
E-mail: gbcjunior@hotmail.com

IFCC WORLDBLAB

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

Promoção e Realização



SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

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 (uniterms) e key words (uniterms).
- 3) Os trabalhos concorrentes deverão ser escritos em português e ser originais, ainda não publicados nem comprometidos para publicação em qualquer Revista Científica da Especialidade;
- 4) O trabalho premiado será obrigatoriamente publicado, 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

Microbiota fúngica presente em diversos setores de um hospital público em Campina Grande – PB

Fungic microbiotic present in various setores of public hospital in Campina Grande – PB

Egberto Santos Carmo¹, Lindomar de Farias Belém², Raissa Mayer R. Catão², Edeltrudes de Oliveira Lima³, Irani Lopes da Silveira⁴ & Luiza Herbene Macedo Soares⁴

RESUMO - Os fungos são seres oportunistas, com ampla distribuição pela natureza (ar, água, solo, plantas, animais, alimentos), incluindo o ambiente hospitalar, onde é freqüente a presença de microrganismos causadores potenciais de infecções hospitalares, principalmente em pacientes debilitados, idosos, crianças. Dentre as doenças oportunistas que podem ser causadas pelos fungos citam-se: onicomicoses, otites, ceratomicoses, fungemias. Este trabalho objetivou isolar e identificar as espécies da microbiota fúngica anemófila dos setores de hemodiálise, agência transfusional, laboratório de análises clínicas, cozinha e lavanderia da Fundação Assistencial da Paraíba – FAP. Na metodologia empregada, foram usadas placas de Petri com Agar Sabouraud, abertas (pela manhã), por 15 minutos a 1 metro do chão, sendo depois fechadas e incubadas a temperatura ambiente, por 7 a 14 dias. Das 30 placas foram isoladas 218 colônias de fungos, identificando 10 gêneros distintos. A lavanderia foi o ambiente de maior contaminação. Os mais freqüentemente isolados foram *Penicillium sp.*, *Micelia sterilia*, *Curvularia sp.* e *Cladosporium sp.*

PALAVRAS-CHAVE - Fungos, Infecções hospitalares, *Penicillium sp.*

SUMMARY - Fungi are opportune creatures, with a wide distribution in the environment (air, water, soil, plants, animals, foods), including hospitals, where the presence of microorganisms frequently cause hospital infections, principally in debilitated patients, senior and children. Among the opportune diseases which can be caused by fungi are: onicomicosis, otitis, eye infections and fungemy. This work has as its objective to isolate and identify the species of microbiotic airborne fungi at blood dialysis sector, blood transfusion agencies, laboratory clinics analyses, kitchen and laundry of the Assistencial Foundation of Paraíba - FAP. In the methodology used, Petri places were utilized with Agar Sabouraud, open in the morning, for 15 minutes at the height of 1 meter from the ground, and after they were closed incubated at room temperature, for 7 at 14 days. 218 fungus colonies were isolated in 30 places, identifying 10 different gender. The best place for contamination was the laundry. *Penicillium sp.*, *Micelia sterilia*, *Curvularia sp.* and *Cladosporium sp.* were the fungi with the highest frequency of isolation.

KEYWORDS - fungi, hospital Infections, *Penicillium sp.*

INTRODUÇÃO

Os fungos, seres eucariontes, heterotróficos, possuem ampla distribuição na natureza, podendo ser encontrados em vários habitats, como: ar, água, terra, animais, alimentos. E suas espécies sofrem em sua incidência variações conforme a localidade, estação do ano, grau higroscópico do ar, entre outras (LACAZ *et al.*, 1991; SIDRIM e MOREIRA, 1999; TRABULSI *et al.*, 2000).

Por oportunismo, a partir da dispersão de seus esporos através do vento, os fungos anemófilos, acabam provocando patologias no ser humano (JAWETS, 1998). Tais fungos são encontrados freqüentemente como componentes da microbiota transitória do homem e animais domésticos; como contaminantes de alimentos; deteriorantes de acervos, madeiras; em água doce e salgada; e são responsáveis pela contaminação de diversos materiais (TRABULSI *et al.*, 2000).

A classificação taxonômica dos fungos é baseada geralmente em estruturas relacionadas com a reprodução sexuada e na falta desta, a mesma é feita pelos órgãos de reprodução assexuada (RICHARDSON e WARNOCK, 1993; SIDRIM e MOREIRA, 1999).

Primariamente, os fungos são observados pela sua forma vegetativa. Sendo esta, unicelular como são conhecidas as leveduras, ou multicelular, caso dos filamentosos (mais abundantes na natureza). Ainda existem os dimórficos, ou seja, podem apresentar-se leveduriformes a temperatura de 37-39°C ou filamentosos a temperatura ambiente (SIDRIM e MOREIRA, 1999).

A ocorrência de infecções por fungos anemófilos é bastante conhecida na literatura médica e os esporos inalados do ar têm sido incriminados como responsáveis por diversos

problemas alérgicos (FURTADO e FERRARONI, 1998). Além dos casos de alergia, muitos fungos oportunistas como dos gêneros: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Candida*, *Fusarium*, são responsáveis por doenças desde otites, micotoxicoses, infecções urinárias, onicomicoses, infecções oculares até fungemias. Fato este bastante preocupante à clínica médica, pois tais microrganismos estão dispersos abundantemente no meio ambiente (SIDRIM e MOREIRA, 1999; GRUMACH, 2001).

No ambiente hospitalar é freqüente a presença de microrganismos, no ar, piso, paredes. E estes, de forma oportunista, podem infectar preferencialmente os pacientes imunodeprimidos, que fazem uso de cateteres, diálise, crianças, idosos, causando infecções intra-hospitalares severas (ZANON e NEVES, 1987; RICHARDSON e WARNOCK, 1993). Fungos como os pertencentes ao gênero *Fusarium* além de poderem causar osteomielite e artrite são conhecidos também por causar peritonite em pacientes que fazem diálise peritoneal, devido a seu caráter oportunista (semelhante aos *Aspergillus*), uma vez que apresentam predileção por invasão vascular resultando em trombose e necrose tecidual. Além de estar entre os quatro gêneros fúngicos mais freqüentes isolados de infecções oportunistas de pacientes com quadro de imunodeficiência (RICHARDSON e WARNOCK, 1993).

Em países como a Tailândia, infecções fúngicas por *Penicillium marneffe*, ocupam o terceiro lugar, depois de tuberculose e Criptococose no que se refere a infecções oportunistas em pacientes portadores de HIV (RANJANA *et al.*, 2002). Segundo Trabulsi *et al.* (1999), 90% dos casos de otomicoses (infecção subaguda ou crônica caracterizada por inflamação exsudativa e prurido do conduto auditivo externo) são por *Aspergillus niger*, sendo os 10% restantes por *Penicillium sp.*

Recebido em 13/09/2006

Aprovado em 30/03/2007

¹Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/LTF/CCS/UFPB;

²CCBS/DF/UEPB; ³CCS/DF/UFPB; ⁴Farmacêutica-Bioquímica/UEPB

Colombo (2002) afirma que a septicemia por fungos é o tipo de infecção hospitalar com maior índice de mortalidade. Embora seja letal em 60% das ocorrências, pouco se sabe sobre o assunto e ainda não há um meio eficiente de erradicá-los. De acordo com seus estudos, pelo menos 10% dos casos de contaminação do sangue contraídos em internações hospitalares são causados diretamente por fungos. "Muitas vezes o paciente morre por infecção generalizada por fungo, sem que a causa verdadeira seja descoberta". O mesmo autor afirma que a tendência para o aumento nos casos de infecção por fungo estaria ligada aos próprios procedimentos médicos. Os catéteres e as sondas que perfuram vasos sanguíneos dos pacientes podem fazer com que os fungos se espalhem pelo sistema circulatório. Tratamentos invasivos (como a diálise) e cirurgias no aparelho digestivo estão entre os principais riscos que os pacientes correm de serem atacados por infecções fúngicas.

Investigações da ocorrência de fungos ambientais, em especial os que compõem a microbiota anemófila hospitalar, habitualmente oportunistas são importantes para prevenção de doenças alérgicas, bem como de infecções hospitalares provocadas por estes patógenos potenciais ao homem (GRUMACH, 2001). Além disso, a identificação e quantificação de seus esporos poderão permitir avanços no diagnóstico e desenvolvimento de novos métodos de abordagem nestas patologias (FILHO ROTOR, 2004).

Nos trópicos, as condições de temperatura e umidade elevados estimulam a proliferação de uma microbiota abundante e diversificada, e dentro dela, dos microrganismos oportunistas e patogênicos do ambiente hospitalar, favorecendo a instalação e disseminação de infecções intrahospitalares. A escassez de dados regionais justifica a realização de um estudo sobre a composição da flora anemófila hospitalar (CATÃO *et al.*, 1998).

Visto o potencial patogênico apresentado por muitos fungos tidos como oportunistas, principalmente, em ambiente hospitalar, onde a presença de indivíduos imunodeprimidos favorece o desenvolvimento de infecções fúngicas é que este trabalho teve como objetivo estudar a diversidade fúngica dos setores de Hemodiálise, Agência transfusional, Laboratórios de Análises Clínicas, Cozinha e Lavanderia da Fundação Assistencial da Paraíba – FAP.

MATERIAL E MÉTODOS

1. **Ambientes estudados:** setores de Hemodiálise, Agência transfusional, Laboratórios de Análises Clínicas, Cozinha e Lavanderia da Fundação Assistencial da Paraíba – FAP.

2. **Local de trabalho:** Laboratório de Análises Clínicas (LAC), Laboratório de Microbiologia do departamento de Biologia, ambos da Universidade Estadual da Paraíba.

3. **Período:** Março a Abril de 2004.

4. **Coleta das amostras de fungos anemófilos:** a coleta foi feita através da técnica de exposição de placas de Petri – Técnica de sedimentação passiva (LACAZ *et al.*, 1998; KERN E BLEVINS, 1999) contendo o meio Agar Sabouraud para deposição de esporos ou outras estruturas fúngicas presentes no ar atmosférico. As placas foram abertas nos ambientes determinados, durante 15 minutos, a uma altura de 1 metro do chão, distantes das paredes (LACAZ *et al.*, 1991; OLIVEIRA *et al.*, 1993). As exposições foram feitas pela manhã, perfazendo um total de 30 placas.

5. **Isolamento:** para o isolamento dos fungos foi utilizado o meio Agar Sabouraud, distribuído em placas de Petri 90X15 lisas, estéreis. As placas foram mantidas à temperatura ambiente durante 5-10 dias (LACAZ *et al.*, 1998; SIDRIM e MOREIRA, 1999; TRABULSI *et al.*, 2000).

6. **Identificação:** para identificação dos fungos foram observados os aspectos macroscópicos das colônias, além do aspecto microscópico entre lâmina e lamínula coradas pelo azul de metileno. Aqueles que não puderam ser identificados de imediato pela ausência de estruturas de reprodução, foram cultivados em meios especiais a fim de estimular a esporulação, valendo-se de técnicas de microcultivo em lâminas, estas coradas com azul de metileno (RIDDEL, 1950). Para identificação dos organismos isolados, foi consultada a literatura mencionada a seguir (LARONE, 1994; LACAZ, 1997; LACAZ *et al.*, 1998; KERN e BLEVINS, 1999 e SIDRIM e MOREIRA, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho através da exposição das placas de Petri, foram isoladas 218 colônias de fungos anemófilos, com um total de 10 gêneros diferentes identificados.

De acordo com a análise da Tabela 1, observa-se que os fungos de maior frequência foram *Penicillium sp.* (66,5%), *Micelia sterilia* (20,2%) e *Curvularia sp.* (4,6%).

TABELA I
Frequência de isolamento de fungos anemófilos
de março a abril de 2004

Espécies Fúngicas	Frequência absoluta Nº de colônias	Frequência relativa (%)
<i>Penicillium sp.</i>	145	66,5
<i>Micelia sterilia</i>	44	20,2
<i>Curvularia sp.</i>	10	4,6
<i>Aspergillus niger</i>	05	2,3
<i>Cladosporium sp.</i>	03	1,4
<i>Fusarium sp.</i>	03	1,4
<i>Sporobolomyces sp.</i>	02	0,9
<i>Acremonium sp.</i>	02	0,9
<i>Rhodotorula sp.</i>	02	0,9
<i>Syncephalastrum sp.</i>	02	0,9

Os resultados obtidos neste trabalho são similares aos encontrados por Marinho (2004), que pesquisando a microbiota anemófila do Hemocentro da Cidade de João Pessoa – PB, observou a presença de *Penicillium sp.*, seguido por *Micelia sterilia*, entre os quatro fungos mais isolados em suas dependências.

Ainda em relação ao gênero *Penicillium*, os dados do presente trabalho coincidem com os de Faure *et al.* (2002). Em seus estudos sobre a microbiota anemófila de um hospital francês, incluindo, dentre os setores, unidades de hematologia, isolou como espécies mais frequentes, *Penicillium sp.*, seguido de *Cladosporium sp.* e *Aspergillus sp.*

Dentre 31 gêneros fúngicos identificados na microbiota anemófila da Cidade de Natal (RN), o gênero *Penicillium* esteve entre os mais frequentes com cerca de 60% (OLIVEIRA *et al.*, 1993).

Segundo Richardson e Warnock (1993), os esporos de *Penicillium* podem ser encontrados em todos os ambientes espalhados pelo ar, portanto apresentando uma grande distribuição. Também é citado por Sidrim e Moreira (1999), como o fungo mais frequente contaminante isolado em laboratório de micologia.

Segundo Kern e Blevins (1999) o perigo da inalação de conídios de *Penicillium sp.* reside na sua capacidade de produzir em indivíduos debilitados uma patologia conhecida como penicilose, a qual é caracterizada por doença pulmonar, que pode se espalhar pelos vasos sanguíneos vizinhos, dissemi-

nando-se pelo líquido cefalorraquidiano (LCR), rins e endocárdio, sendo esta forma disseminada geralmente fatal. Observa-se na Tabela 2, que dos 10 gêneros fúngicos identificados em toda a pesquisa, representantes de todos eles foram encontrados na lavanderia. A prevalência maior foi do gênero *Penicillium*, o qual esteve presente em todos os ambientes pesquisados (100%), seguido por *Micelia sterilia* (80%), *Curvularia* e *Cladosporium* (60%), *Aspergillus* (40%), entre outros.

TABELA II
Relação dos gêneros fúngicos encontrados isolados e dos locais amostrados

Nº	Gêneros fúngicos isolados	Hemodíalise	Agência transfusional	Laboratório	Cozinha	Lavanderia	Nº e % dos gêneros fúngicos
01	<i>Penicillium</i>	+	+	+	+	+	5=100%
02	<i>Micelia sterilia</i>	+		+	+	+	4=80%
03	<i>Cladosporium</i>	+		+		+	3=60%
04	<i>Fusarium</i>			+	+	+	3=60%
05	<i>Sporobolomyces</i>		+			+	2=40%
06	<i>Acremonium</i>			+		+	2=40%
07	<i>Curvularia</i>			+	+	+	3=60%
08	<i>Rhodotorula</i>				+	+	2=40%
09	<i>Aspergillus</i>				+	+	2=40%
10	<i>Syncephalastrum</i>					+	1=20%

Catão *et al.* (1998) analisando a distribuição da microbiota anemófila em ambiente hospitalar (Campina Grande, PB) observou uma frequência de 100% do gênero *Penicillium*, seguida por *Cladosporium* (77,77%) e *Micelia sterilia* (66,66%) em todos os setores pesquisados do hospital.

Apesar da existência de vários trabalhos sobre a microbiota anemófila fúngica em ambiente hospitalar, como por exemplo, Catão *et al.*, (1998); Faure *et al.*, (2002), dados sobre a área específica de lavanderia são escassos. Contudo o resultado encontrado não é estranho levando em consideração o fato deste setor reunir roupas, lençóis, enfim muitos tecidos contaminados oriundos de todos os setores avaliados ou não.

A roupa utilizada pelos pacientes geralmente contém uma grande quantidade de microrganismos. Na literatura especializada, existem relatos com contagens que vão de 10⁶ até 10⁸ bactérias por 100 cm² de tecido. Os principais patógenos encontrados são bastonetes gram negativos (BGN), destacando-se enterobactérias e *Pseudomonas sp.* Os gram positivos mais comuns são *Staphylococcus sp.* (BLASER, *et al.*, 1984). Tecidos sujos de hospital levados para lavanderia contêm sangue, urina e outros fluídos, os quais podem estar contaminados com microrganismos patogênicos (fungos, bactérias e vírus). Na lavanderia é essencial a lavagem com efeito de limpeza, mas principalmente antimicrobiano. Evitando recontaminação, pela reutilização desses tecidos por outros pacientes. (ZOOLER, 1999; FIJAN, *et al.*, 2005; FIJAN, *et al.*, 2006).

A agitação da roupa já usada e úmida pode contaminar o ar através da suspensão de partículas e da formação de aerossóis. O contato direto com estas roupas pode contaminar também equipamentos, as mãos e os uniformes dos profissionais de saúde (FRIED e CARROL, *et al.*, 1997).

A contaminação observada em todos os setores pode ser associada com o fluxo humano, falta de metodologia de limpeza, uma provável baixa eficiência dos desinfetantes utilizados. Além de outros fatores que contribuem para a permanência ou penetração de microrganismos como ven-

tilação, temperatura e a umidade ambiental, entre outros (LACAZ, 1977; SILVA, 1983).

Os fungos isolados nos diferentes setores do ambiente hospitalar são ubiqüitários e alguns gêneros podem causar infecções oportunistas em condições especiais do hospedeiro, particularmente em indivíduos imunodeprimidos, quemadros, crianças desnutridas e idosos (SILVA, 1983).

Segundo Sidrim e Moreira (1999) os fungos identificados *Penicillium sp.*, *Curvularia sp.*, *Fusarium sp.*, *Acremonium sp.*, *Cladosporium sp.* podem ser responsáveis por muitas doenças oportunistas como onicomioses, ceratites, otites, quadros alérgicos, micotoxicoses, além de infecções urinárias, pulmonares e até sistêmicas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES

Nos setores pesquisados os fungos de maior frequência de isolamento foram *Penicillium sp.*, *Micelia sterilia*, *Curvularia sp.*, *Aspergillus sp.* e *Cladosporium sp.* Prevalecendo dentre todos o *Penicillium sp.*, único encontrado em todos os setores;

A lavanderia foi o setor que apresentou maior diversidade fúngica, apresentando todos os gêneros fúngicos isolados; Os fungos isolados nos diferentes setores do ambiente hospitalar são ubiqüitários e alguns gêneros podem causar infecções oportunistas em condições especiais do hospedeiro, particularmente em indivíduos imunodeprimidos;

A transmissão pelo ar é uma considerável fonte de infecções fúngicas. Sabe-se que o tratamento destas em pacientes imunodeprimidos é difícil e que estas infecções são geralmente fatais. A prevenção vem ser a melhor medida de controle e, portanto conhecer a epidemiologia do ambiente hospitalar vem ser crucial no desenvolvimento de estratégias preventivas.

Pode-se justificar a quantidade e diversidade fúngica evidenciada na pesquisa, pelo fato da FAP, localizar-se em uma microrregião de clima transitório entre quente e úmido, ou seja, onde as condições de clima, umidade e temperatura favorecem o desenvolvimento de fungos.

Sugere-se que sejam adotados métodos de limpeza mais eficazes nos ambientes e uma rotina de limpeza das bandejas de água, serpentinas e filtros melhorando assim a qualidade do ar. Desinfecção, por exemplo, com hipoclorito de sódio e/ou propilenoglicol, degermação, anti-sepsia e assepsia são contra as formas vegetativas. E esterilização para eliminar ambas, a forma vegetativa e esporos (formas reprodutivas).

AGRADECIMENTOS

A Fundação Assistencial da Paraíba – FAP, em especial ao Diretor Administrativo Severino Santiago pela colaboração para o desenvolvimento desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- BLASER, MJ; SMITH, PF; CODY, HJ et al. Killing of fabric-associated bacteria in hospital laundry by low-temperature washing. *J Infect Dis.* 1984 Jan;149(1):48-57.
- CATÃO, R. M. R.; LIMA, E. O.; VIEIRA, K. U. M.; GOMES, L. F. V. A.; CEBALLOS, B. S. O. Distribuição da microbiota anemófila em ambiente hospitalar (Campina Grande, PB). *RBAC*. vol. 30, 1998, p. 25-30.
- COLOMBO, A. L. Ação de fungos é letal em até 60% das contaminações. Disponível em: <http://www.unifesp.br/comunicacao/jpta/ed167/pesquisa2.htm/>. Acessado em: 09/07/2004.
- FAURE, O.; FRICKER-HIDALGO, H.; LEBEAU, B.; MALLARETY, M. R.; AM-

- BROISE-THOMAS, P.; GRILLOT, R. Eight-year surveillance of environmental fungal contamination in hospital operating rooms and haematological units. *Journal of hospital infection*. 2002, p. 155-160.
5. FIJAN, S.; POLJSK-PRIJATELJ, M.; STEYER, A.; KOREN, S.; CENCIC, A.; SOSTAR-TURK, S. Rotaviral RNA found in wastewaters from hospital laundry. *Int. J. Hyg. Environ-health* 209 (2005). 97-102.
6. FIJAN, S.; SOSTAR-TURK, S.; CENCIC, A. Implementing hygiene monitoring systems in hospital laundries in order to reduce microbial contamination of hospital textiles. *Journal of hospital infection* 61 (2005), 30-38.
7. FILHO, N. A. R. Ecologia de fungos – isolamento e identificação de fungos do ambiente (habitat, via de dispersão e substrato). Disponível em: www.hc.ufpr.br/acad/pediatria/comunidade.htm. Acessado em: 10/03/2004.
8. FURTADO, M. S. S. e FERRARONI, J. J. Fungos anemófilos em ambientes hospitalares da cidade de Manaus. *Revista Amazonas Ciência e Cultura*. Manaus, nº 34, set. 1998, p. 42-47.
9. GRUMACH, A. S. Alergia e imunologia na infância e na adolescência. São Paulo: Atheneu, 2001, p. 16-21.
10. Hospitals and other health-care settings: section 6 - laundry. In Fried A, O'Carroll PW, eds. *CDC Prevention Guidelines - A Guide to Action*. Williams & Wilkins, 1997:1269-70.
11. JAWETS, E. *Micologia Médica*. 20 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, p. 253-270.
12. KERN, M. E.; BLEVINS, K. S. *Micologia Médica: texto e Atlas*. 2 ed. São Paulo: Premier, 1999.
13. LACAZ, C. S. *Infecções por Agentes Oportunistas*. São Paulo: Edgar Beucher, 1977.
14. LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C. *Micologia Médica*. 8 ed. São Paulo: Sarvier, 1991, 695p.
15. LACAZ, C. S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO, N. T. *Guia para identificação: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico*. São Paulo: Sarvier, 1998.
16. LARONE, D. H. *Medically Important Fungi – a guide to identification*. 3ª ed. New York: ASM Press, 1994, p. 78-80.
17. MARINHO, A. T. M. *Identificação da Microbiota Fúngica Anemófila do Hemocentro da Paraíba*. [monografia apresentada para conclusão do curso de Análises Clínicas do departamento de ciências farmacêuticas da universidade federal da Paraíba]. 2004, 36p.
18. OLIVEIRA, M. T. B.; BRAZ, R. F. S.; RIBEIRO, M. A. G. Airborne fungi isolated from Natal, State of Rio Grande do Norte – Brazil. *Rev. Microbiol*, São Paulo, 1993. p. 25-30.
19. RANJANA, K. H.; PRIYOKUMAR, K.; SINGH, Th. J.; GUPTA, Ch. C.; SHARMILA, L. SINGH, P. N.; CHARKRABARTI, A. Disseminated *Penicillium marneffei* Infection among HIV-infected patients in Manipur State, India. *Journal of infection*. 2002. p. 268-271.
20. RICHARDSON, M. D.; WARNOCK, D. W. *Fungal infection: diagnosis and management*. Blackwell Scientific Publications, 1993. p. 1-2; 192-195.
21. RIDDEL, R. W. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture mycology. *v. 42, 1950*. p. 265-270.
22. SIDRIM, J. J. C.; MOREIRA, J. L. B. *Fundamentos clínico-laboratoriais da micologia médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, p. 171-190.
23. SILVA, M. G. Flora fúngica do ar e do piso no hospital das clínicas da UFMG, Belo Horizonte, Brasil. *Rev. Microbiol.*, São Paulo: 14(3): 215-222, Jul/Set, 1983.
24. TRABULSI, L. R.; ALTATHUM, F.; GOMPertz, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. *Microbiologia*. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 1999, p. 421-422.
25. ZANON, U. e NEVES, J. *Infecções Hospitalares – Prevenção, Diagnóstico e Tratamento*. Rio de Janeiro: MEDSI, 1987.
26. ZOLLER, U. *Handbook of detergents, Part A: Properties. Surfactant Science Series*, vol. 82. Marcel Dekker, Inc., New York. 1999.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Egberto Santos Carmo
Rua: Alcebíades da Cunha, nº 33, Bancários
Cep: 58051-080 João Pessoa – PB

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

Promoção e Realização



SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Avaliação do método de Papanicolaou para triagem de algumas infecções cérvico-vaginais

Evaluation of the method of Papanicolaou for screening of some cervico-vaginal infections

Márcia Carolina Luque Martins¹, Cinthia Gandolfi Bôer², Terezinha Inez Estivalet Svidzinski³, Luizinho Gonzaga Donida⁴, Paulo Fernando Alves Martins⁴, Fernanda Narciso S. Boscoli⁵ & Márcia Edilaine Lopes Consolaro²

RESUMO - Tem crescido o interesse na utilização da citologia de Papanicolaou (Pap) para o reconhecimento de infecções cérvico-vaginais, como uma importante alternativa diagnóstica. O presente trabalho objetivou avaliar a acurácia diagnóstica da citologia de Pap no Laboratório Oswaldo Cruz de Paranavaí - Paraná, para algumas dessas infecções. Foi realizado um levantamento de dados nos anos de 2003/2004 e foram incluídas as pacientes que tinham resultado de Pap e também de outro exame para o diagnóstico dos seguintes agentes infecciosos: *Candida* sp, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* sp, *Leptothrix* sp, *Papillomavirus* humano (HPV) e *Trichomonas vaginalis*. Para os quatro primeiros agentes, considerou-se também os resultados da bacterioscopia de secreção vaginal (Gram), para HPV os da Captura Híbrida (Digene[®]) e para *T. vaginalis* os do exame a fresco de secreção vaginal. Foram incluídos resultados de 1021 pacientes e as infecções mais frequentes foram candidíase (188 casos, 18,41%) e vaginose bacteriana (142 casos, 13,9%). HPV foi diagnosticado em 14 casos (1,4%), *Leptothrix* sp em 11 (1,1%) e *T. vaginalis* em 5 (0,5%). A especificidade de Pap para candidíase e vaginose bacteriana foi de 99,4% e 98,1%, e a sensibilidade de 32,8% e 56,8%, respectivamente. Para candidíase, a frequência de falso positivo (FP) do Pap foi de 13,0%, a de falso negativo (FN) de 7,7% e a eficiência de 87,5%. Para vaginose bacteriana, FP foi de 5,8%, a FN 19,3% e a eficiência de 93,0%. Em nossa casuística, o método de Pap mostrou-se aplicável para triagem de candidíase e vaginose bacteriana, principalmente para excluir estas patologias, uma vez que os valores de especificidade obtidos foram muito elevados.

PALAVRAS-CHAVE - citologia, Papanicolaou, infecções cérvico-vaginais

SUMMARY - The interest has been growing in the use of the cytology of Papanicolaou (Pap) for the recognition of cervico-vaginal infections, as an important alternative diagnostic. The present work objectified to evaluate the accuracy diagnostic of the cytology of Pap in the Oswaldo Cruz Laboratory of Paranavaí - Paraná, for some of those infections. A rising of data was accomplished in the years of 2003/2004 and they were included the patients that had resulted of Pap and also of other exam for the following infectious agents' diagnosis: *Candida* sp, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* sp, *Leptothrix* sp, Human Papillomavirus (HPV) and *Trichomonas vaginalis*. For the first four agents, was also considered the results of the bacterioscopy of vaginal secretion (Gram), for HPV the one of the Hybrid Capture (Digene) and for *T. vaginalis* the ones of the exam on fresh of vaginal secretion. Patient results of 1021 were included and the most frequent infections were candidiasis (188 cases, 18,41%) and bacterial vaginose (142 cases, 13,9%). HPV was diagnosed in 14 cases (1,4%), *Leptothrix* sp in 11 (1,1%) and *T. vaginalis* in 5 (0,5%). The specificity of Pap for candidiasis and bacterial vaginose was of 99,4% and 98,1%, and the sensibility of 32,8% and 56,8%, respectively. For candidiasis, the frequency of false positive (FP) of Pap it was of 13,0%, the one of false negative (FN) of 7,7% and the efficiency of 87,5%. For bacterial vaginose, FP was of 5,8%, FN 19,3% and the efficiency of 93,0%. In our casuistry, the method of Pap was shown applicable for candidiasis and bacterial vaginose screening, mainly to exclude these pathologies, once the values of obtained specificity were very high.

KEYWORDS - cytology, Papanicolaou, cervico-vaginal infections

INTRODUÇÃO

As vulvovaginites podem ser definidas como infecções que acometem as paredes vaginais causando alteração do pH local, prurido e algumas vezes secreção, tendo como agentes etiológicos mais frequentes *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis* e *Candida* sp. Os processos causados por *G. vaginalis* e *Mobiluncus* sp são também conhecidos como vaginose e os causados por *T. vaginalis* e *Candida* sp, como vaginites (Oplustil *et al.*, 1998/1999). O exame a fresco é muito utilizado para diagnóstico de tricomoníase, candidíase e vaginose bacteriana devido à rapidez de informações disponíveis. Porém existem limitações quanto ao uso do esfregaço a fresco como: 1) Impossibilidade de arquivamento; 2) Rápida secagem das amostras, reduzindo a acurácia na detecção de corpos móveis; 3) Dificuldade de aplicação de alguns critérios morfológicos clássicos, como "células-guia", "células-chave" ou "clue-cells", pois algumas vezes a presença de diminutos lactobacilos sobre as células epiteliais podem ser erroneamente interpretados (Santos *et al.*, 1992; Maeda *et al.*, 1994). As colorações de Papanicolaou (Pap) e Gram são as mais usadas na rotina laboratorial para a identificação de vagi-

noses bacterianas, sendo que o Gram apresenta alta correlação positiva com a cultura, próxima a 100% (Santos *et al.*, 1992). Esta aplicação de Pap apresenta grande relevância em termos de conduta terapêutica, uma vez que, segundo alguns autores, a flora microbiana vaginal tem sido considerada um co-fator na patogênese da neoplasia intraepitelial cervical (Maeda *et al.*, 1994).

A citologia de Pap tem papel importante no reconhecimento das alterações inflamatórias e infecciosas do trato genital feminino, designadas pelo Sistema Bethesda para Diagnóstico Citológico/2001 como alterações celulares reativas (Solomon & Nayar, 2005). Ela permite avaliar a intensidade da reação inflamatória, acompanhar sua evolução e, em certos casos, determinar o agente causal (Gompel e Koss, 1997). Para muitos pacientes com doenças infecciosas, técnicas de isolamento e identificação microbiológica são frequentemente utilizadas na determinação específica do agente causal. Por outro lado, a visualização de microrganismos em esfregaços citológicos e/ou das alterações morfológicas deles decorrentes, como no caso de alguns vírus, com frequência acrescenta importantes informações que em algumas circunstâncias são cruciais para o estabelecimento do diagnóstico (Woods e Walker, 1996; Murta *et al.*, 2000).

Recebido em 12/02/2007

Aprovado em 26/03/2007

¹Aluna do Curso de Especialização em Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá-PR; ²Docente adjunto de Citologia Clínica da Universidade Estadual de Maringá-PR; ³Docente adjunto de Micologia Médica da Universidade Estadual de Maringá-PR; ⁴Farmacêutico- Bioquímico do Laboratório Oswaldo Cruz de Paranavaí-PR; ⁵Médica Patologista do Laboratório Oswaldo Cruz de Paranavaí-PR

Ultimamente, tem crescido o interesse na utilização da citologia no diagnóstico de algumas infecções cérvico-vaginais associadas a patógenos de transmissão sexual, pois a utilização desta técnica laboratorial sensível, barata e altamente reprodutível tem sido considerada uma importante alternativa diagnóstica nestes casos (Avilés *et al.*, 2001). Sem dúvida, há mais de meio século a citopatologia é utilizada no diagnóstico de infecções cérvico-vaginais e alguns trabalhos tem sido realizados para avaliar a sua acurácia diagnóstica para vaginose bacterianas, tricomoníase e candidíase (Murta *et al.*, 2000; Adad *et al.*, 2001; Avilés *et al.*, 2001). Através de todas estas considerações, pode-se afirmar que a maximização da eficiência morfológica é fundamental para atender às expectativas quanto ao diagnóstico citológico das infecções cérvico-vaginais, como vaginites e vaginose. Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar a acurácia diagnóstica da citologia de Pap realizada no Laboratório Oswaldo Cruz de Paranavaí – Paraná para alguns destes agentes na rotina citológica, através da comparação com metodologias mais comumente utilizadas na rotina laboratorial para estes diagnósticos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material de estudo e levantamento de dados

Foi realizado um levantamento de dados dos exames de Colpocitologia Oncótica de Papanicolaou (Pap), do Laboratório Oswaldo Cruz de Paranavaí – Paraná, relativo ao período de 01 de janeiro de 2003 a 31 de dezembro de 2004. Este Laboratório atende pacientes do SUS, de Convênios e Particulares, de Paranavaí e região. Foram incluídas as pacientes com resultados de Pap e, também, de outro método mais comumente utilizado na rotina laboratorial para o diagnóstico dos seguintes agentes infecciosos: *Candida* sp, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* sp, *Leptothrix* sp, *Papillomavirus* humano (HPV) e *Trichomonas vaginalis*. Para os quatro primeiros agentes, considerou-se também os resultados da bacterioscopia de secreção vaginal (Gram), para HPV os da Captura Híbrida (Digene®) e para *T. vaginalis* os do exame a fresco da secreção vaginal.

Coleta e processamento do material investigado

As amostras analisadas foram coletadas no próprio laboratório ou enviadas já coletadas por laboratórios da região ou por médicos. Com o material coletado no próprio laboratório, foram confeccionados dois esfregaços para Pap, sendo que um deles continha o material exocervical e vaginal, coletado pela espátula de Ayre e o outro material endocervical coletado com Cytobrush. Em seguida, os mesmos foram fixados em álcool comercial 95° GL. Para a bacterioscopia de Gram, foi confeccionado esfregaço com secreção vaginal e para o exame a fresco este mesmo material foi adicionado em frasco estéril contendo salina, que foi enviado ao setor de bacteriologia no menor tempo possível. A coleta e confecção de esfregaços para Pap das amostras não coletadas no próprio laboratório seguiram os critérios de cada médico ou laboratório. Foi realizada a coloração dos esfregaços pelo método de Pap, as lâminas foram montadas com verniz e lamínulas para obtenção da laminoteca permanente (Gompel e Koss, 1997). Os esfregaços corados foram analisados por duas profissionais (uma farmacêutica-bioquímica e uma médica patologista), sob microscopia óptica comum, em objetivas de 10X e 40X, eventualmente de 100X (ocular de 10X) para confirmação da flora microbiana. Foi utilizado o Sistema Bethesda/2001 para a emissão dos resultados de Pap (Solomon & Nayar, 2005).

As lâminas de bacterioscopia foram coradas pelo método de Gram clássico (Stinghen *et al.*, 2002) e examinadas por microscopia óptica de 10X e 100X, enquanto que o exame a fresco da secreção vaginal foi realizado em objetivas de 10X, 25X e 40X por farmacêutico-bioquímico, tudo em ocular de 10X.

Para a captura híbrida, a coleta foi realizada com kit especial fornecido pela Digene Diagnostics, sendo que o material coletado foi introduzido em tubo com solução conservadora e enviado para o Laboratório Hermes Pardini – Belo Horizonte-MG, que realizou esta análise. Os profissionais que realizaram a análise citológica não tinham conhecimento dos resultados das outras metodologias e vice-versa.

Crítérios morfológicos para a identificação de agentes infecciosos cérvico-vaginais em estudo

Foram utilizados os critérios descritos por Solomon & Nayar (2005) baseados no Sistema Bethesda para Citopatologia Cervicovaginal modificado em 2001.

Neste estudo, os casos agrupados como sugestivos de candidíase foram aqueles em que à citologia e/ou no Gram foram observadas leveduras e/ou pseudohifas. Já aqueles classificados como vaginose bacteriana, foram observados microrganismos sugestivos de *Gardnerella vaginalis* e/ou *Mobiluncus* sp, pelas respectivas metodologias.

Foram calculados os seguintes parâmetros estatísticos: sensibilidade, especificidade, frequências de falso positivo (FP) e de falso negativo (FN), e eficiência da citologia de Pap para o diagnóstico de candidíase e vaginose bacteriana, que são as infecções de diagnóstico mais frequente. Para calcular estes parâmetros, foi utilizada a bacterioscopia de Gram da secreção vaginal como padrão-ouro através de dados de tabelas 2X2 e prova exata de Fisher. Foi utilizado o programa estatístico STATGRAPHICS Versão 5.0.

RESULTADOS

Foram incluídos resultados de 1021 pacientes no período de estudo. As Figura 1 a 3 mostram os agentes estudados ao Pap. A Figura 1A mostra pseudohifas e escassas leveduras sugestivas de *Candida* sp, esfregaço citológico com infiltrado neutrofílico e com células epiteliais apresentando aumento nuclear, halo perinuclear, degeneração nuclear e pseudoeosinofilia. Microrganismos filamentosos, não ramificados, muito longos, sugestivos de *Leptothrix* sp são observado na Figura 1B e *Gardnerella vaginalis* é observada na Figura 2A, tratando-se de cocobacilos pleomórficos, que se aderem às células escamosas superficiais ou intermediárias, que demonstram sua superfície completamente recoberta por estas bactérias (célula-chave). Os *Mobiluncus* sp são bacilos curvos e móveis, que também se aderem à superfície das células epiteliais, dando aspecto de "tapete de pêlo" ou "comma-cells", conforme Figura 2B. A Figura 3A mostra os *T. vaginalis*, que apresentam-se como estrutura redonda, piriforme ou raramente irregular, com coloração cianófila. Seu núcleo é excêntrico, de pequeno tamanho, e caracterizado por um aspecto finamente vesiculoso e pálido. Os flagelos são raramente e as células escamosas podem apresentar uma eosinofilia marcada no citoplasma, acompanhada de típicos e estreitos halos peri-nucleares. Os coilócitos típicos de HPV são observados na Figura 3B, tratando-se de uma alteração em células escamosas maduras contendo um, dois ou mais núcleos discarióticos. Ocorre uma grande cavidade ou área clara que circunda o núcleo proeminente.

As infecções mais frequentes foram candidíase e vaginose bacteriana. Considerando os casos diagnosticados pela citologia e pelo Gram, candidíase totalizou 188 casos (18,41%) e vaginose bacteriana 142 casos (13,9%), como mostram as Tabelas 1, 2 e 3. O HPV foi diagnosticado pela citologia em apenas 1 caso e pela captura híbrida em 13, num total de 14 casos (1,4%). *Leptothrix* sp foi detectado em 10 casos pelo Gram e em apenas 1 pela citologia, representando 11 casos (1,1%). Quanto a tricomoniase, 4 casos foram detectados pela citologia e 1 à fresco, totalizando 5 casos (0,5%). Estes dados são mostrados na Tabela 1. Um total de 661 casos (64,7%) apresentaram-se negativos para os agentes na duas metodologias analisadas para cada um deles.

As Tabelas 2 e 3 mostram os resultados das leituras dos esfregaços corados pelo Gram e pelo Pap, para a detecção de candidíase e vaginose bacteriana, respectivamente. Mostram também os valores dos resultados estatísticos da citologia de Pap para o diagnóstico destas infecções.

TABELA I
Agentes etiológicos mais frequentes nos 1021 casos analisados.

Agentes etiológicos	Citologia (Pap)	Padrão-ouro	Total de casos (n°)	Frequências (%)
<i>Candida</i> sp	65	123*	188	18,4
<i>Gardnerella vaginalis</i> e/ou <i>Mobiluncus</i> sp	88	54*	142	13,9
Papillomavirus humano	1	13**	14	1,4
<i>Leptothrix</i> sp	1	10*	11	1,1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	4	1***	5	0,5
Total de casos positivos	159	201	360	35,3

* Bacterioscopia de Gram

** Captura híbrida

***Exame a fresco de secreção vaginal

TABELA II
Resultados da citologia para o diagnóstico de candidíase, comparativamente com o Gram.

Citologia (Pap)	Gram		Total
	positivo	negativo	
Positivo	60	5	65
Negativo	123	833	956
Total	183	838	1021

Sensibilidade= 32,8%

Especificidade= 99,4%

FP= 13,0%

FN= 7,7%

Eficiência= 87,5%

TABELA III
Resultados da citologia para o diagnóstico de vaginose bacteriana, comparativamente com o Gram.

Citologia (Pap)	Gram		Total
	positivo	negativo	
Positivo	71	17	88
Negativo	54	879	933
Total	125	896	1021

Sensibilidade= 56,8%,

Especificidade= 98,1%

FP= 5,8%

FN= 19,3%

Eficiência= 93,0%

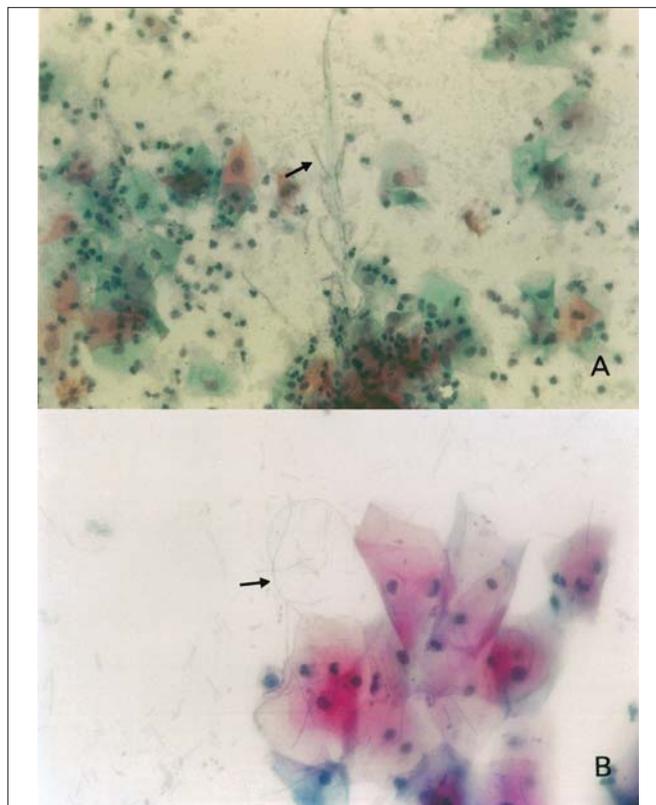


FIGURA 1- Fotomicrografias de esfregaços cervico-vaginais corados por Papanicolaou. A) Pseudohifas sugestivas de *Candida* sp- aumento de 200X; B) Bacilos longos sugestivos de *Leptothrix* sp- aumento de 400X.

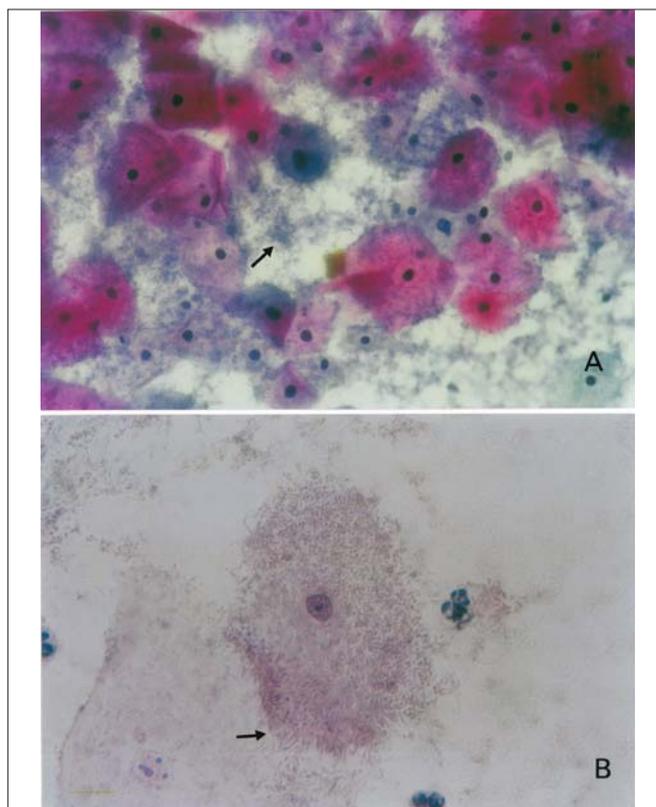


FIGURA 2- Fotomicrografias de esfregaços cervico-vaginais corados por Papanicolaou. A) Cocobacilos sugestivos de *Gardnerella vaginalis*- aumento de 400X; B) Bacilos curvos sugestivos de *Mobiluncus* sp- aumento de 1000X.

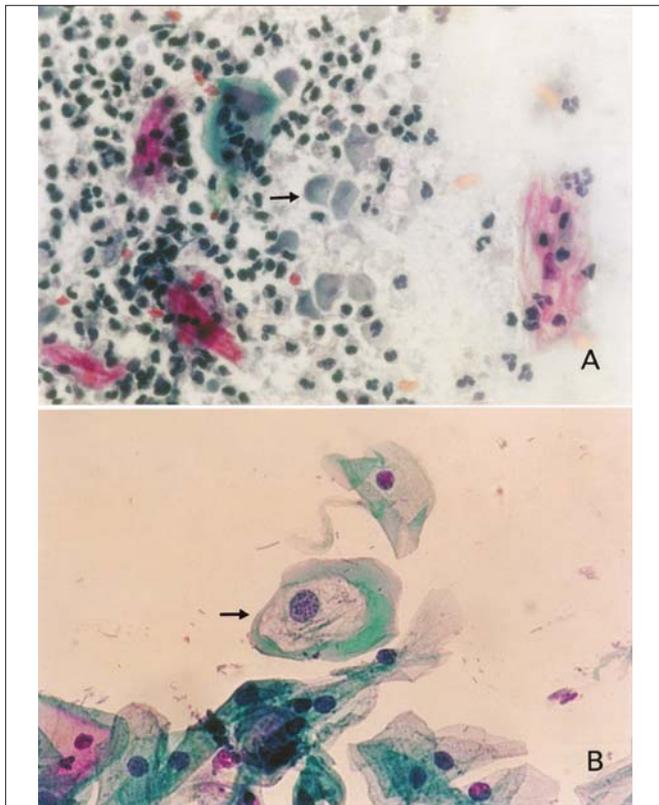


FIGURA 3- Fotomicrografias de esfregaços cérvico-vaginais corados por Papanicolaou. Aumentos de 400X. A) microrganismos sugestivos de *Trichomonas vaginalis*; B) coilocito sugestivo de infecção por HPV.

DISCUSSÃO

No Brasil, graças a campanhas governamentais existentes, o número de mulheres sexualmente ativas que realizam periodicamente, os seus exames de Pap é altamente significativo. Desta forma, a ampla utilização deste exame para o diagnóstico de patógenos cérvico-vaginais, acarretaria no diagnóstico dos mesmos em um número muito grande de mulheres, sem a necessidade de realização de exames complementares. Neste contexto, uma quantidade cada vez maior de médicos tem utilizado os resultados de Pap como base para o tratamento destes patógenos, o que leva a uma preocupação quanto ao desempenho do método para este fim nos diferentes laboratórios (Chiuchetta *et al.*, 2002).

Candidíase vulvovaginal (CVV) é um distúrbio ocasionado pelo crescimento de fungos do tipo leveduras na mucosa do trato genital feminino. Trata-se de uma infecção de vulva e vagina, causada por leveduras comensais que habitam a mucosa vaginal. Estas leveduras podem tornar-se agressivas quando o sítio de colonização do hospedeiro passa a ser favorável para o seu desenvolvimento; 80 a 90% dos casos são devidos a *Candida albicans*, e 10 a 20% a outras espécies chamadas não-*C. albicans* (*C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*) (Lacaz *et al.*, 1991; Consolaro *et al.*, 2004). Neste trabalho, como pode ser observado na Tabela 1, leveduras foram os agentes mais diagnosticados, com frequência de 18,4% dos casos analisados. Sobel (1993) descreveu que a CVV ocupa o segundo lugar entre as infecções cérvico-vaginais, precedida pela vaginose bacteriana. Porém, Adad *et al.* (2001) encontraram resultados semelhantes aos nossos, indicando que, em algumas populações, parece estar havendo uma elevação no diagnóstico

de CVV. A literatura descreve frequência de 6,3 a 22,2% para esta patologia (Murta *et al.*, 2000; Chiuchetta *et al.*, 2002; Consolaro *et al.*, 2004). Isto está de acordo com Silva Filho e Longatto Filho (2000), que relataram que a frequência de candidíase é muito variável.

Na vaginose bacteriana, a microbiota lactobacilar normal é substituída por concentrações relativamente elevadas de outras bactérias, principalmente *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus* sp (Castejon *et al.*, 1995). Reflete uma complexa alteração da microbiota vaginal normalmente com ausência de uma resposta inflamatória. Leva geralmente à presença de corrimentos intensos com ausência habitual de prurido, queimação ou sintomas urinários (De Luca *et al.*, 1981). Vaginose bacteriana foi a segunda mais frequente infecção diagnosticada neste estudo, ocorrendo em 14,9% dos casos. É descrito frequência de 17,3% a 38,1% (Davis *et al.*, 1997; Murta *et al.*, 2000; Avilés *et al.*, 2001). Nas três décadas passadas, a associação do HPV e de outros agentes de infecções cérvico-vaginais com a carcinogênese cervical foi exaustivamente estudada, tendo sido comprovado que este vírus é a causa principal da maioria dos cânceres carvais e lesões intraepiteliais escamosa (SIL) em todo o mundo (Carvalho *et al.*, 2003). Tal fato é agravado ao considerar-se que as infecções anogenitais causadas por HPV são descritas como uma das doenças sexualmente transmissíveis mais comuns (Bonfiglio e Erozan, 1997). Irie *et al.* (2001) obtiveram frequência de HPV pelo Pap de 2,7% e Chiuchetta *et al.* (2002) de 1,6%, resultados muito superiores aos deste trabalho (0,1%). Isto pode ser decorrente de características epidemiológicas da população atendida não avaliadas neste trabalho.

Leptothrix sp são microrganismos considerados sapróbios da vagina, podendo algumas vezes causar infecção no trato genital (Gompel e Koss, 1997). Existem poucos relatos na literatura quanto à frequência desta bactéria nos exames cérvico-vaginais. Consolaro e Suzuki (1998) descrevem esta bactéria em 0,18% dos exames citológicos analisados, Silva Filho & Longatto Filho (2000) em 0,05 a 0,10% e Chiuchetta *et al.* (2002) em 0,28%. Neste trabalho, a frequência desta bactéria foi superior a da literatura analisada (1,1%), ressaltando que apenas um caso foi diagnosticado pelo Pap. *T. vaginalis* é um protozoário flagelado, comumente encontrado ao nível dos órgãos genitais inferiores da mulher, e ao nível de próstata e uretra no homem (Gompel e Koss, 1997). Este agente foi diagnosticado em 0,5% das pacientes deste estudo, enquanto que Chiuchetta *et al.* (2002) em 0,18% e Adad *et al.* (2001) em 3,4%. Já está estabelecido que a maior incidência de tricomoníase nas mulheres é influenciada por variações de classe social e pela multiplicidade de parceiros sexuais, dentre outros fatores (Petrin *et al.*, 1998). A baixa frequência de tricomoníase obtida neste estudo não deve ser atribuída à condição sócio-econômica, uma vez que as pacientes atendidas pelo Laboratório Osvaldo Cruz de Paranavaí-PR englobam particulares, de convênios médicos e do SUS.

A especificidade de Pap para o diagnóstico de candidíase e de vaginose bacteriana foi alta (99,4 e 98,1%, respectivamente), o que indica que é muito alta a probabilidade de concordância entre os resultados de Gram e Pap quando os resultados são negativos para estes dois quadros infecciosos em secreção vaginal. Os valores para candidíase são semelhantes aos de Schmidt *et al.* (1997), Avilés *et al.* (2001) e Carneiro *et al.* (2006), que encontraram especificidade entre 96,0 e 100,0%. O mesmo ocorre para vaginose bacteriana, uma vez que Davis *et al.* (1997) obtiveram especificidade de 98,0% e Lamont *et al.* (1999) de 90,7%. As-

sim, o Pap é muito confiável, comparativamente ao Gram, ao excluir a presença destes dois processos infecciosos.

A sensibilidade do Pap foi de 32,8 % e 56,8 %, para candidíase e vaginose bacteriana, respectivamente. Isto demonstra que a probabilidade desta metodologia morfológica ser positiva em casos de Gram positivo para estas infecções é maior para vaginose bacteriana. A literatura descreve valores de sensibilidade muito variáveis de candidíase ao Pap, variando de 3,0 a 62,8% (Schmidt *et al.*, 1997; Avilés *et al.*, 2001; Stingham *et al.* 2004; Carneiro *et al.*, 2005). Para vaginose bacteriana, Davis *et al.* (1997) obtiveram sensibilidade de 55,0% e Avilés *et al.* (2001) de 66,0%. Assim, nossos resultados apresentaram-se muito semelhantes ao descrito na literatura para esta última infecção. Segundo Craver e Abermanis (1997), para testes propostos como screening para determinada patologia, como é o caso do Pap para as duas infecções em estudo, a sensibilidade é mais importante que a especificidade, pois um bom teste aceita falso positivos (FP) enquanto minimiza falso negativos (FN). A especificidade é mais importante para testes confirmatórios. Em nossos resultados, para detecção de candidíase, a frequência de FP do Pap foi de 13,0% e a frequência de FN foi de 7,7 %. Os valores de FP foram aceitáveis e superiores aos FN, que foram portanto minimizados e a eficiência foi também alta (87,5%). A literatura descreve resultados de FP de 3,2 a 15,4% e FN de 9,6 a 76,7% (Stingham *et al.*, 2004, Carneiro *et al.*, 2005). Segundo Stingham *et al.* (2004), as variações observadas nos diferentes estudos podem ser decorrentes de diferenças populacionais bem como da forma de escrutínio dos esfregaços bem como dos critérios morfológicos para a identificação das leveduras. De maneira global, nossos resultados demonstraram bons valores em relação à literatura analisada, reforçando a aplicação criteriosa dos critérios morfológicos neste laboratório e a importância do método de Pap na detecção desta infecção.

Já para vaginose bacteriana, a frequência de FP para do Pap foi de 5,8% e a frequência de FN foi de 19,3%, exatamente o contrário do ocorrido para candidíase. Porém, apesar do FP ter sido menor que o FN, estes valores não mostraram-se elevados, fato este que associado ao valor de sensibilidade obtido e a eficiência de 93,0%, respaldam a utilização de Pap para detectar esta infecção.

CONCLUSÕES

Em nossa casuística, o método de Pap mostrou-se aplicável para triagem de vaginose bacteriana e de candidíase, principalmente para excluir estas patologias, uma vez que os valores de especificidade obtidos foram muito elevados. Mais estudos devem ser realizados no sentido de avaliar um número maior de casos, para que assim sejam obtidas conclusões mais contundentes, inclusive para avaliação dos outros agentes como *Leptothrix* sp, HPV e *T. vaginalis*, cuja análise estatística ficou prejudicada devido ao número muito reduzido de casos.

REFERÊNCIAS

- ADAD, S.J.; LIMA, R.V.; SAWAN, Z.T.E.; SILVA, M.L.G.; SOUZA, M.A.H.; SALDANHA, J.C.; FALCO, V.A.A.; CUNHA, A.H.; MURTA, E.F.C. Frequency of Trichomonas vaginalis, Candida sp and Gardnerella vaginalis in cervical-vaginal smears in four different decades. Rev. Paul. Med., 119(6): 200-205, 2001.
- AVILÉS, A.G.P.; ZARAGOZA, C.O.; BARRERA, L.T.; VÁSQUEZ, R.M.; ROSAS, R.P. Es útil la tinción de papanicolaou como auxiliar del diagnóstico de algunas infecciones de transmisión sexual? Atenc. Prim., 27(4): 222-226, 2001.
- BONFIGLIO, T. A.; EROZAN, Y.S. Gynecologic cytopathology. Philadelphia, Lippincott-Raven, 1997.

- CARNEIRO, S. C.; MAZUCHELI, J.; PERALTA, R.M.; SVIDZINSKI, T.I.E.; CONSOLARO, M.E.L. Contribuição da citologia de Papanicolaou para o diagnóstico de leveduras em secreção vaginal. J Bras. DST, 18 (1): 36-40, 2006.
- CARVALHO, M.O.O.; ALMEIDA, R.W.; LEITE, F.M.S.; FELLOWS, I.B.; TEIXEIRA, M.H.; OLIVEIRA, L.H.S.; CAVALCANTI, S.M.B. Detection of human Papillomavirus DNA by the hybrid capture assay. Bras. J. Inf. Dis., 7(2): 121-125, 2003.
- CASTREJON, H.V. et al. Infecção por Gardnerella vaginalis emparejas heterossexuais. Estudio ultraestructural en células de descamacion del epitelio estratificado. Ginecol Ob. Ste. Mex., 63: 139-146, 1995.
- CHIUCHETTA, G. I. R.; RUGGERI, L. S.; PIVA, S.; CONSOLARO, M.E.L. Estudo das inflamações e infecções cérvico-vaginais diagnosticadas pela citologia. Arq. Cien. Saúde UNIPAR, 6(2): 123-128, 2002.
- CONSOLARO, M.E.L.; SUZUKI, L.E. Bactérias do trato genital feminino detectadas pela colpocitologia. Arq. Cien. Saúde UNIPAR, 2(3): 289-294, 1998.
- CONSOLARO, M. E. L.; ALBERTONI, T.A.; YOSHIDA, C.S.; MAZUCHELI, J.; PERALTA, R.M.; SVIDZINSKI, T.I.E. Correlation of Candida species and symptoms among patients with vulvovaginal candidiasis in Maringá, Paraná, Brazil. Rev. Iberoam. Micol., 21: 202-205, 2004.
- CRAVER, R.D.; ABERMANIS, J.G. Dipstick only urinalysis screen for the pediatric emergency room. Ped. Neph., 331-333, 1997.
- DAVIS, J. D.; CONNOR, E.E.; CLARK, P.; WILKINSON, E. J.; DUFF, P. Correlation between cervical cytologic results and gram stain as diagnostic tests for bacterial vaginosis. J. Obstet. Gynecol., 177(3): 532-535, 1997.
- DE LUCA, L. et al. Vulvovaginites. Botucatu: UNESP Monografia (graduação), Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Botucatu, 1981.
- GOMPEL, C.; KOSS, L. Citologia ginecológica e suas bases anatomoclínicas. São Paulo, Manole, 1997.
- IRIE, M.M.T.; SUZUKI, L.E.; YOSHIDA, C.S.; LOPES, D.C.; CONSOLARO, M.E.L. Avaliação dos critérios morfológicos clássicos e não clássicos de HPV no diagnóstico colpocitológico. Arq. Cien. Saúde UNIPAR, 5(3): 259-266, 2001.
- LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C. Micologia médica. 8ª ed. São Paulo, Sarvier, 1991, 695p.
- LAMONT, R.F.; HUDSON, E.A.; HAY, P.E.; MORGAN, D.J.; MODI, V.; ISON, C.A.; TAYLOR, R.D. A comparison of the use of Papanicolaou-stained cervical cytological smears with Gram-stained vaginal smears for the diagnosis of bacterial vaginosis in early pregnancy. Int. J. DST AIDS, 10(2): 93-97, 1999.
- MAEDA, M.Y.S.; SHIRATA, N.K.; PEREIRA, G.M.C.; PEREIRA, S.M.M.; YAMAMOTO, L.S.U. Identificação diferencial do Mobiluncus sp nas vaginose bacterianas através do diagnóstico morfológico e sua importância na rede de saúde pública. Rev. Bras. Med., 51(3): 361-364, 1994.
- MURTA, E.F.C.; SOUZA, M.A.H.; JÚNIOR, E.A.; ADAD, S.J. Incidence of Gardnerella vaginalis, Candida sp and human Papillomavirus in cytological smears. Rev. Paul. Med., 118(4): 105-108, 2000.
- OPLUSTIL, C.P.; SOUZA, N.; AUN, N.; FRANCISCO, W.; MENDES, C. Utilização de sondas de DNA para o diagnóstico de vaginites e vaginose. Laes & Haes, 116: 98-106, dez.1998/jan.1999.
- PETRIN, D.; DELGATY, K.; BHAPP, R.; GARBER, G. Clinical and microbiological aspects of Trichomonas vaginalis. Clin. Microb. Rev., 11(2): 300-317, 1998.
- SANTOS, D.R.; ANDRÉA, A.F.; SHIRATA, N.K.; LONGATTO, A.F.; MAEDA, M.Y.S.; CAVALIÈRE, M.J.; SHIH, L.W.S.; OYAFUSO, M.S. Gardnerella vaginalis: estudo morfológico em esfregaços a fresco e pelo método de Papanicolaou e sua correlação clínica. J. Bras. Ginecol., 102 (4): 105-107, 1992.
- SCHNEIDER, A.; MEINHARDT, G.; DE VILLERS, E.M.; GISMMANN, L. Sensitivity of the cytologic diagnosis of cervical condyloma in comparison with HPV-DNA hybridization studies. Diagn. Cytopathol., 3: 250-255, 1987.
- SCHMIDT, A.; NOLDECHEN, C.F.; MENDLING, W.; HARTZMANN, W.; WOLFF, M.H. Oral contraceptive use and vaginal Candida colonization. Zentr. Gynak., 119: 545-549, 1997.
- SILVA FILHO, A.M.; LONGATTO FILHO, A. Colo uterino & vagina – processos inflamatórios. Rio de Janeiro, Revinter, 2000. 35-54p.
- SOBEL, J.D. Candidal vulvovaginitis. Clin. Obstet. Gynecol., 36: 153-165, 1993.
- SOLOMON, D.; NAYAR, R. Sistema Bethesda para citopatologia cervicovaginal. 2ª ed. Rio de Janeiro, Revinter, 2005.
- STINGHEN, A.E.M.; ALBINI, C.A.; SOUZA, H.A.P.H.M. Coloração de Gram – Como fazer, interpretar e padronizar. Curitiba, Microscience, 2002.
- STINGHEN, A.E.M.; NASCIMENTO, A.J.; LEONART, M.S.S. Método de Papanicolaou em material cérvico-vaginal para a triagem de infecção por Candida sp, Trichomonas vaginalis e Chlamydia trachomatis. Rev. Bras. Anál. Clín., 36 (2): 111-115, 2004.
- WOODS, G.L.; WALKER, D.H. Detection of infectious agents by use of cytologic and histologic stains. Clin. Microb. Rev., 9(3): 382-404, 1996.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Dra. Marcia Edilaine Lopes Consolaro
Departamento de Análises Clínicas - Universidade Estadual de Maringá
Av. Colombo, 5790, Maringá
CEP: 87020-900 Paraná - Brasil.
Email: melconsolaro@uem.br
Fone: (44)-3261-4795

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

Prevalência de síndrome metabólica e estratificação de risco para DAC em pacientes hipertensos-tabagistas

Metabolic syndrome prevalence and risk stratification for coronary artery disease in hypertension-tobacco patients

Nilton Rosini^{1,2}; Andreza Diegoli Rosini¹; Donaída Maria Mousse^{2,3} & Guilherme Diegoli Rosini⁴

RESUMO - A síndrome metabólica (SM) é caracterizada por um conjunto de fatores de risco (FR), que, por si só, contribuem para a gênese de doenças cardiovasculares (DCV), enquanto o escore de risco de Framingham (ERF) permite o cálculo do risco absoluto de eventos coronarianos acontecerem em 10 anos. Seguindo os critérios estabelecidos pela *National Cholesterol Education Program* (NCEP – ATP III), foram verificados a prevalência de SM e o risco absoluto em 146 pacientes hipertensos-tabagistas com histórico familiar para DCV, na cidade de Brusque/SC. Em 59,6% foi caracterizada a síndrome. Em 24,7% havia a associação de três critérios, com quatro, 28,1% e em 6,8% todos os critérios. Pelo ERF, 37,7% apresentaram risco >20%, 38,4% entre 10 – 20% e 23,9% inferior a 10%. Nos pacientes com risco >20%, 81,8% apresentaram colesterol total >200 mg/dl, 56,4% com triglicérides >150 mg/dl e 54,5% HDL-c diminuído. O elenco de FR que poderão acometer o indivíduo com SM, além do alto risco calculado pelo ERF para desenvolver DAC, principalmente em hipertensos-tabagistas com histórico familiar para DCV, faz do diagnóstico da síndrome e a identificação precoce dos fatores de fundamental importância para estratificar o risco global do paciente, bem como introduzir terapias visando o controle do maior número possível de distúrbios presente.

PALAVRAS-CHAVE - Síndrome metabólica, escore de risco de Framingham, hipertensão, tabagismo, histórico familiar para doença cardiovascular.

SUMMARY - The metabolic syndrome (MS) is characterized for a group of risk factors (RF), which contribute for the genesis of cardiovascular diseases (CVD), while the Framingham risk score (FRS) permit the calculation of absolute risk of cardiovascular events will happen till 10 years. According to the establish criteria for the *National Cholesterol Education Program* (NCEP – ATP III), were verified the prevalence of MS and the absolute risk 146 subjects, hypertension – tobacco with familial history for CVD, in Brusque/SC. In 59,6% was characterized the syndrome. In 24,7 % there was the association of three criteria, with four, 28,1% and 6,8% with all criteria. For the FRS, 37,7% presented risk >20%, 38,4% between 10 – 20% and 23,9% inferior than 10%. For the subjects with risk > 20%, 81,8% presented cholesterol >200 mg/dl, 56,4% with triglycerides >150mg/dl and 54,5% HDL-c decreased. The casting of Risk Factors which will happen with the subject with MS, though the high calculated risk for the FRS for the arterial cardiovascular disease development, mainly in hypertension – tobacco with familial history for CVD, make the syndrome diagnostic and the early identification of factors fundamental importance for the stratification of global risk subject, as well as introduce therapies looking for a better control of presented disturbs.

KEYWORDS - Metabolic Syndrome, Framingham risk score, hypertension, tobacco, familial history for cardiovascular disease.

INTRODUÇÃO

A síndrome metabólica (SM) é caracterizada por um conjunto de fatores de risco (FR) de origem metabólica, que promovem de forma direta o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV) (16). Dentre os FR destacam-se a obesidade (deposição de gordura central) e a resistência à insulina (RI). No entanto, comumente, observa-se a presença de outros FR muito bem estabelecidos na gênese da DCV, como hipertensão e dislipidemias, fazendo com que o sinergismo destes fatores aumente a mortalidade geral em 1,5 vezes e relacionada à patologias cardiovascular em 2,5 vezes (11,16).

A prevalência de SM na população brasileira não está muito bem estabelecida, porém populações como mexicana, norte-americana e asiática variam entre 12,4% a 28,5% entre os homens e 10,7% a 40,5% entre as mulheres (1,16,18). Clinicamente, os critérios para se estabelecer a presença de SM em determinado indivíduo apresenta diferentes definições. A Organização Mundial da Saúde (OMS) preconiza a RI ou o distúrbio do metabolismo da glicose, condição primária (2), enquanto para a ATP III a alteração em pelo menos três dos seguintes FR: obesidade abdominal = medida da circunferência abdominal (Cir. Ab.), triglicérides (TG), HDL-colesterol (HDL-c), pressão arterial e glicemia de jejum, identificam o portador da síndrome (16). Uma

terceira definição é adotada pela *American Association of Clinical Endocrinologists* que considera critérios da OMS e ATP III (12,16). A recomendação da ATP III, por sua forma simplificada, facilita a aplicação clínica e é recomendada pela I DIRETRIZ BRASILEIRA DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA SÍNDROME METABÓLICA (I-DBSM) (9), sendo desta forma utilizada pelo presente estudo.

O escore de risco de *Framingham* (ERF) permite o cálculo do risco absoluto de eventos coronarianos (morte, IAM e angina de peito), acontecerem no indivíduo em 10 anos (10). Para se chegar ao percentual, o ERF utiliza FR não modificáveis (idade e sexo) e modificáveis (colesterol total (CT), HDL-c, pressão arterial, diabetes e tabagismo) (10) e genericamente classifica em alto risco (> 20% de desenvolver doença arterial coronariana em 10 anos), médio (entre 10 – 20%) e baixo risco (< 10%) (10). O estudo verificou a presença de SM e estratificou o risco absoluto de DAC, pelo ERF, em pacientes portadores de três FR para DCV: tabagismo, hipertensão e histórico familiar para DCV.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas amostras sanguíneas de 146 pacientes (51 homens e 95 mulheres) com idade média de 57,3 anos (58,8 e 56,6 homens e mulheres, respectivamente), todos portadores de três FR associados para DCV: tabagismo, hipertensão e histórico familiar. Realizadas dosagens de CT, TG,

Recebido em 06/09/2006

Aprovado em 21/03/2007

¹Farmac.-Bioquímico do Laboratório de Análises Clínicas Verner Willich, Brusque, SC; ²Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Farmácia, CCS, UFSC, Florianópolis, SC; ³Farmac.-Bioquímico do HEMOSC, Joinville, SC; ⁴Graduando Biotecnologia – UNIVALI, SC.

HDL-c e glicose em equipamento CCX – ABBOTT, com metodologia enzimática apropriada para cada analito, no Laboratório de Análises Clínicas Verner Willrich e a LDL-c calculada pela fórmula de Friedewald (10). A medida da circunferência abdominal (Cir. Ab.) foi verificada em centímetros no meio da distância entre a crista ilíaca e rebordo costal inferior (9). A estratificação do risco absoluto realizado pelo ERF de acordo com as III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias (10).

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital de Azambuja – Brusque/SC e pelo Comitê de Ética para Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina. Todos os pacientes assinaram termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

RESULTADOS

Para classificação da SM, A I-DBSM considera como presença de hipertensão, e diabetes, os pacientes que utilizam anti-hipertensivos e hipoglicemiantes (9) e no presente estudo, no critério hipertensão, foi seguida a recomendação (todos os pacientes eram hipertensos com diagnóstico prévio e em uso de anti-hipertensivos), enquanto para o ERF todos eram tabagistas.

Entre os 146 pacientes que participaram do estudo 59,6% (n = 87) foram classificados como tendo SM, sendo 51,0% (n = 26) entre os homens e 64,2% (n = 61) entre as mulheres. Na SM, várias combinações de critérios, que a caracterizam, foram observadas, e com a associação de três deles havia 24,7% (n = 36), sendo 21,6% (n = 11) entre os homens e 26,3% (n = 25) entre as mulheres. Portadores de quatro fatores 28,1% (n = 41), com 25,5% (n = 13) e 29,5% (n = 28) homens e mulheres, respectivamente. Com os cinco fatores, ou seja, Cir. Ab. acima do referendado, nível sérico de TG elevado, HDL-c diminuído, intolerância à glicose em jejum e hipertensão, foram encontrados 6,8% (n = 10), sendo 3,9% (n = 2) entre os homens e 8,4% (n = 8) entre as mulheres (Figura 1 e Tabela 1).

De acordo com a classificação de alto, médio e baixo risco no ERF, foram encontrados 37,7% (n = 55), 38,4% (n = 56) e 23,9% (n = 35) pacientes, respectivamente. Sendo que entre os homens havia 70,6% (n = 36), 21,6% (n = 11) e 7,8% (n = 4) e entre as mulheres 20,0% (n = 19), 47,4% (n = 45) e 32,6% (n = 31), respectivamente, conforme demonstrado na Tabela 2. Na pontuação do ERF as alterações lipídicas observadas em pacientes de alto risco foram: 81,8% com CT >200 mg/dl e com HDL-c inferior ao recomendado 54,5%. Observado ainda, que a LDL-c >100 mg/dl esteve presente em 89,1% e 56,4% com TG >150 mg/dl (Tabela 3). Nas mulheres com Cir. Ab. acima de 88 cm, 53,7% (n = 51) eram portadoras de SM e 73,7% (n = 14) alto risco para IAM em 10 anos pelo ERF, enquanto nos homens com medida superior a 102 cm, 31,5% (n = 16) e 41,7% (n = 15), respectivamente (Tabela 4).

No grupo avaliado e com risco superior a 20% pelo mesmo escore, 33,3% (n = 29) eram portadoras de SM, sendo 69,2% (n = 18) e 18,0% (n = 11), homens e mulheres, respectivamente (Tabela 5).

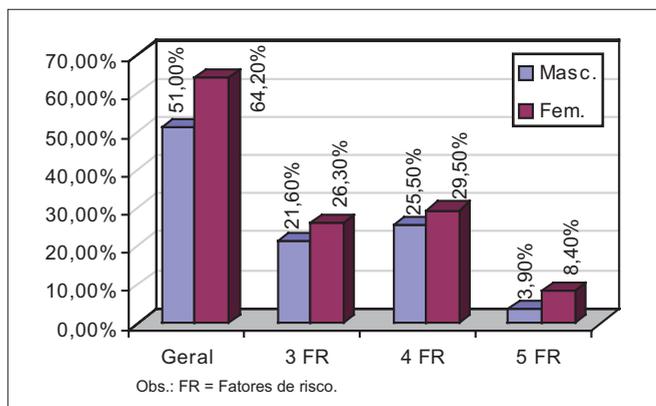


Figura 1 – Percentual de pacientes com SM separado por sexo. Geral e com 3, 4 e 5 critérios associados.

TABELA I
Percentual (n) geral e separado por sexo de pacientes com SM e de acordo com a associação de critérios encontrados.

FR associados	Geral		Homens		Mulheres	
	%	n	%	n	%	n
Cir.A b. + TG	5,5	8	3,9	2	6,3	6
Cir.A b. + HDL	6,2	9	1,9	1	8,4	8
Cir.A b. + Glic.	2,7	4	1,9	1	3,2	3
TG + HDL	6,8	10	9,8	5	5,7	5
TG + Glic.	2,1	3	3,9	2	1,1	1
HDL + G lic.	1,4	2	-	-	2,1	2
Sub-total (com 3 FR)	24,7	36	21,6	11	26,3	25
Cir.A b. + TG + HDL	10,9	16	3,9	2	14,7	14
Cir.A b. + TG + Glic.	8,2	12	11,8	6	6,3	6
Cir.A b. + HDL + Glic.	5,5	8	3,9	2	6,3	6
TG + HDL + Glic.	3,4	5	5,9	3	2,1	2
Sub-total (com 4 FR)	28,1	41	25,5	13	29,5	28
Cir.A b. + TG + HDL + Glic.	6,8	10	3,9	2	8,4	8
Total	59,6	87	51,0	26	64,2	61

Obs.: Todos os participantes eram hipertensos.

Legenda.: Cir.Ab. = Circunferência Abdominal; TG = triglicérides; HDL = lipoproteína de alta densidade; Glic. = glicemia de jejum. FR = Fatores de risco.

TABELA II
Percentual de pacientes (n), geral e separado por sexo, de acordo com a classificação do ERF em alto, médio e baixo risco.

Classificação	Geral		Homens		Mulheres	
	%	n	%	n	%	n
> 20%	37,7	55	70,6	36	20,0	19
10 – 20%	38,4	56	21,6	11	47,4	45
< 10%	23,9	35	7,8	4	32,6	31

TABELA III
Percentual de pacientes (n) com alterações lipídicas, geral e separado por sexo, de acordo com a classificação do ERF em alto, médio e baixo risco.

Lipídios	Classificação e meta lipídica não desejável.	Geral		Homens		Mulheres	
		%	n	%	n	%	n
CT	> 20%	81,8	45	77,8	28	89,5	17
	10 – 20%	85,7	48	54,5	6	93,3	42
	< 10%	54,3	19	25,0	1	58,0	18
LDL-c	> 20% (>100 mg/dl)	89,1	49	83,3	30	100,0	19
	10 – 20% (>130 mg/dl)	33,9	19	54,5	6	28,9	13
	< 10% (>130 mg/dl)	40,0	14	100,0	4	32,2	10
TG >150m g/dl	> 20%	56,4	31	50,0	18	68,4	13
	10 – 20%	48,2	27	54,5	6	46,7	21
	< 10%	25,7	9	25,0	1	25,8	8
HDL-c*	> 20%	54,5	30	47,2	17	68,4	13
	10 – 20%	53,6	30	54,5	6	53,3	24
	< 10%	48,6	17	25,0	1	51,6	16

* Homens < 40 mg/dl; Mulheres < 50 mg/dl.

TABELA IV
Percentual (n) de pacientes com Circ.Ab. acima do referendado (homens > 102 cm, mulheres > 88 cm) em relação a SM e com alto, médio e baixo risco pelo ERF.

		Geral		Homem		Mulher	
		%	n	%	n	%	n
SM		45,9	67	31,4	16	53,7	51
	> 20%	52,7	29	41,7	15	73,7	14
	10 – 20%	57,0	32	14,3	5	60,0	27
ERF	< 10%	82,8	29	zero	zero	61,3	29

Legenda: SM = Síndrome Metabólica; ERF = Escore de Risco de Framingham.

TABELA V
Percentual (n) de pacientes com SM classificados em alto, médio e baixo risco pelo ERF.

	Classificação	Geral		Homem		Mulher	
		%	n	%	n	%	n
ERF	> 20%	33,3	29	69,2	18	18,0	11
	10 – 20%	48,2	42	30,8	8	55,7	34
	< 10%	18,3	16	zero	zero	26,3	16
	Total	59,6	87	29,9	26	70,1	61

DISCUSSÃO

A OMS destaca os FR mais importantes relacionados à morbimortalidade em doenças crônicas não-transmissíveis: hipertensão, hipercolesterolemia (dislipidemia), sobrepeso ou obesidade, tabagismo, ingestão insuficiente de frutas, hortaliças e legumes e inatividade física (23). Esses fatores, acrescidos de diabetes, aspectos psicossociais e ingestão de álcool, estavam presentes em 90% dos pacientes com infarto agudo do miocárdio, conforme foi demonstrado pelos autores do estudo INTERHEART (24) e cinco deles estão relacionados como critério da ATP III para caracterizar a presença de SM no indivíduo. No estudo realizado, 59,6% dos participantes foram caracterizados como portadores da síndrome e 6,8% entre os homens e 3,9% entre as mulheres, apresentaram todos os critérios (Tabela 1). No ERF, seis dos fatores apontados anteriormente são critérios para pontuação (exceção à idade) e 37,7% dos pacientes foram classificados com alto risco.

O número de mulheres participantes (n = 95) em relação aos homens (n = 51) não configura o dobro, porém o número de participantes do sexo feminino classificado como tendo SM foi duas vezes superior aos homens em todos os aspectos (geral, com 3, 4 e 5 fatores associados, conforme Tabela 1). Já pelo ERF, os participantes do sexo masculino apresentaram percentual maior de alto risco para desenvolver DAC em relação ao sexo feminino, ou seja, 70,6% (n = 36) e 20,0% (n = 19), respectivamente, enquanto com médio risco (entre 10 – 20%) havia 21,6% (n = 11) dos homens e 47,4% (n = 45) das mulheres (Tabela 2). A idade é um fator que contribui com alta pontuação no ERF e nos participantes classificados com alto risco, 41,6% (n = 15) nos homens e 31,6% (n = 6) nas mulheres apresentaram idade inferior a 60 anos.

Pacientes com hipertensão usualmente podem ser acometidos de alterações na glicose sanguínea, insulina e metabolismo lipoprotéico (6,20) e a RI tem sido apontada como a ligação entre hipertensão, através do TNF-alfa (5,25). Alguns autores sugerem que a hipertensão seja menos metabólica em relação a outros componentes da SM por ser de origem multifatorial (7), porém a sua presença permanece como um dos critérios para caracterizar a síndrome. Todos os participantes do estudo eram hipertensos diagnosticados e em uso de anti-hipertensivos.

Para os indivíduos com hábito de fumar, o tabagismo é o principal FR independente para DCV e o efeito tóxico do fumo é resultante de 4.720 substâncias identificadas na fumaça do tabaco (17). No ERF qualquer quantidade de cigarro nos últimos 30 dias considera o indivíduo como tabagista (10) e todos os participantes do estudo eram fumantes. A obesidade é um FR para DCV e a localização da gordura central ou abdominal possui maior correlação com os desvios metabólicos em relação ao índice de massa corporal (IMC). A Cir. Ab. é uma medida simples e aceita para definir a obesidade abdominal (22). O indivíduo obeso poderá desenvolver hipertensão, intolerância à glicose e estados pró-inflamatórios e pró-trombóticos e estão relacionados à moléculas biologicamente ativas, sintetizadas e se-

cretadas pelos adipócitos, como ácidos graxos não-esterificados, citocinas (TNF-alfa e IL-6), inibidor do plasminogênio ativado 1 (PAI-1), resistina e leptina (13,15). Em relação ao grupo estudado, nos pacientes com SM, a Cir. Ab. (obesidade central) acima do referendado, esteve presente em 45,9%, 31,4% (n = 16) nos homens e 53,7% (n = 51) nas mulheres. No ERF nos pacientes de alto risco para DAC a Cir. Ab. acima do referendado esteve presente em 52,7% (n = 29), sendo 41,7% (n = 15) entre os homens e 73,7% (n = 14) entre as mulheres (Tabela 4).

A aterogenicidade ligada às dislipidemias na SM consiste em um conjunto de alterações nas lipoproteínas, incluindo níveis séricos elevados de TG, apolipoproteína B, elevação da LDL pequena e densa e redução de HDL-c (7). Essas alterações podem ocorrer com o nível plasmático da LDL-c permanecendo nos limites aceitáveis, e em pacientes com alto risco (portadores de SM, por exemplo) a redução da LDL-c para níveis inferiores a 100 mg/dl teria maior indicação (3). Na SM, a presença de nível plasmático elevado de TG e/ou diminuído de HDL-c é critério para caracterização e no estudo esta associação foi encontrada em 23,5% (n = 12) entre os homens e 30,5% (n = 29) entre as mulheres (não apresentado em Tabela). Nos pacientes com risco >20%, 77,8% (n = 28) apresentaram CT >200 mg/dl e 83,3% (n = 30) LDL-c >100 mg/dl, entre os homens. Nas mulheres 89,5% (n = 17) e 100,0%, respectivamente (Tabela 3).

A presença de níveis séricos alterados de glicose é utilizada para caracterizar a presença da SM e a *International Diabetes Foundation* (IDF), bem como a *American Diabetes Association* (ADA) adotaram como 100 mg/dl a linha de corte para intolerância à glicose em jejum (7), modificando esse critério da ATP III (superior a 110 mg/dl). A intolerância à glicose em jejum pode levar o indivíduo a resistência à insulina (RI), embora indivíduos normoglicêmicos possam apresentar RI (19). A RI normalmente é acompanhada com aumento da insulina circulante e isso se deve pela redução às respostas normais à insulina nos tecidos como músculos esqueléticos, tecido adiposo, fígado e endotélio (21). No estudo, seguindo critério da IDF, 30,1% dos pacientes apresentou glicose em jejum acima de 100 mg/dl e a RI não foi pesquisada.

A multiplicidade de FR aumenta a possibilidade de desenvolvimento de DCV (4) e a associação de critérios para caracterizar a presença de SM que mais se fez presente entre as mulheres foi Cir. Ab. + TG + HDL-c, com 14,7%, enquanto nos homens prevaleceu a associação de Cir. Ab. + TG + Glicemia acima de 100 mg/dl (11,8%), além da hipertensão para ambos (Tabela 1). Já no ERF nas mulheres com alto risco a Cir. Ab. acima do recomendado esteve presente em 73,7% (n = 14), como verificado na Tabela 4 e todas apresentaram LDL-c acima de 100 mg/dl, enquanto nos homens 50,0% (n = 18) estavam com TG acima de 150 mg/dl e 83,3% (n = 30) com LDL-c >100 mg/dl (Tabela 3). Os indivíduos com SM apresentam risco elevado para DCV (11). Na escala de *Framingham*, a SM *per se* prediz em aproximadamente 25% o risco de DCV em 10 anos (8). No grupo em estudo 59,6% apresentaram SM e destes 33,3% risco acima de 20% de desenvolver DAC em 10 anos. Neste grupo, entre os homens, todos apresentaram risco acima de 10%, ou seja, 69,2% (n = 18) >20% e 30,8% (n = 8) entre 10 – 20% e nas mulheres 18,0% (n = 11) e 55,7% (n = 34) alto e médio risco, respectivamente (Tabela 5). A presença de dislipidemias, com elevação sanguínea de TG, diminuição de HDL-c, presença de LDL-c pequena e densa e a RI, freqüentemente acompanhada de intolerância à glicose em jejum (poderá levar o indivíduo a diabetes tipo 2) além da hiperglicemia, são FR independente para DCV (8).

A hipertensão fortemente associada a obesidade e frequentemente observada em pacientes com RI, assim como a obesidade que além da hipertensão contribui para a dislipidemia, são por si só FR para DCV (8). O elenco de FR que poderão acometer o indivíduo com SM, além do alto risco calculado pelo ERF para desenvolver DAC, principalmente em hipertensos, tabagistas e com histórico familiar para DCV, faz do diagnóstico da síndrome e a identificação precoce dos fatores de fundamental importância para estratificar o risco global do paciente, bem como introduzir terapias visando o controle do maior número possível de distúrbios presente.

REFERÊNCIAS

1. AGUILAR-SALINAS, C.A.; ROJAS, R.; GÓMEZ-PÉREZ, F.J. et al. High prevalence of metabolic syndrome in México. *Arch Med Res*, v. 35, p. 76-81, 2004.
2. ALBERTI, F.G.M.M.; ZIMMET, P.Z. For the WHO Consultation. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*, v. 15, p. 539-553, 1998.
3. BERTOLAMI, M.C. Síndrome metabólica e risco cardiovascular: Alterações do metabolismo lipídico no paciente com síndrome metabólica. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*, v. 14, p. 551-556, 2004.
4. DAVIGNON, J.; GANZ, P. Atherosclerosis: involving vascular biology and clinical implications. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*, v.109 (supl III), p. III27- III32, 2004.
5. DORFFEL, Y.; LATSCH, C.; STUHLMULLER, B.; et al. Preactivated peripheral blood monocytes in patients with essential hypertension. *Hypertension*, v. 34, p. 113-117, 1999.
6. FERRANNINI, E.;BUZZIGOLI, G.; BONADONNA, R. et al. Insulin resistance in essential hypertension. *N Engl J Med*, v. 317, p. 330-357, 1987.
7. GRUNDY, S.M.; CLEEMAN, M.D.; DANIELS, S.R. et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome. An American Heart Association/ National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*, v. 112, p. , 2005.
8. GRUNDY, SM, BREWER, B; CLEEMAN, J.I. et al. Definition of Metabolic Syndrome. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. *Circulation*, v. 109, p. 433-438, 2004.
9. I DIRETRIZ BRASILEIRA DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA SÍNDROME METABÓLICA (I-DBDTSM). *Revista da Sociedade Brasileira de Hipertensão*, v. 7, n. 4, p. 11-81.
10. III DIRETRIZES BRASILEIRAS SOBRE DISLIPIDEMIAS, *Arq Bras Cardiol*, v. 77, S. III, p. 1-48, 2001.
11. LAKKA, H.M.; LAAKSONEN, D.E.; NISKANEM, L.K. et al, the metabolic syndrome and total an cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*, v. 288, p. 2709-2716, 2002.
12. LOPES, H.F. Síndrome Metabólica: Aspectos históricos, prevalência, e morbidade e mortalidade. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*, v. 14, n. 4, p. 539-543, 2004.
13. MATSUZAWA, Y.; FUNAHASHI, T.; NAKAMURA, T. Molecular mechanisms of metabolic syndrome X: contribution of adipocytokines adipocyte-derived bioactive substances. *Ann N Y Acad Sci*, v. 892, p. 146-154, 1999.
14. MODAN, M.; HALKIN, H.; ALMOG, S. et al. Hyperinsulinemia: a link between hypertension, obesity and glucose intolerance. *J Clin Invest*, v. 75, p. 809-817, 1985.
15. MONTAGUE, C.T.; O'RAHILLY, S. The pearls of portiness: causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes*, v. 49, p. 883-888, 2000.
16. NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP). EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS (ADULT TREATMENT PANEL – ATP III), FINAL REPORT. *Circulation*, v. 106, p. 3143-3421, 2002.
17. NOVAZZI, J.P; RELVAS, W.G.M. fumo e álcool: papel na doença cardiovascular. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*, v. 10, n. 6, p. 811-818, 2000.
18. OH J-Y; HONG, Y.S.; SUNG, Y-A; et al. Prevalence and factor analysis of metabolic syndrome in an urban Korean population. *Diabetes Care*, v. 27, p. 2027-2032, 2004.
19. REAVEN, G.M. Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, v. 37, p. 1595-1606, 1988
20. REAVEN, G.M.; LITHELL, H.; LANDSBERG, L. Hypertension and associated metabolic abnormalities: the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *N Engl J Med*, v. 334, p. 374-381, 1996.
21. RHODES, C.J.; WHITE, M.F.; Molecular insights into insulin action and secretion. *Eur J Clin Invest, Suppl 3*, p 3-13, 2002.
22. SOWERS, J.R. Obesity as a cardiovascular risk factor. *Am J Med*, v. 115, n. 8A, p. 37S-41S, 2003.
23. The World Health Report 2002: Reducing Risks, Promoting Health Life. Geneva: WHO, 2002.
24. YUSUF, S.; HAWKEN, S.; OUNPUU, S. et al. INTERHEART study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. v. 364, p. 937-952, 2004.
25. ZINMAN, B.; HANLEY, A. J.; HARRIS, S.B.; et al. Circulating tumor necrosis factor- α concentrations in a native Canadian population with high rates of type 2 diabetes mellitus. *J Clin endocrinol Metab*, v. 84, p. 272-278, 1999.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

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

IFCC WORLDFLAB

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

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Alterações nas dosagens do hormônio tireoestimulante em pacientes atendidos em um laboratório escola

Alterations in the dosages of thyroid-stimulatory hormone in patients taken care of in a laboratory school

Jucelene Marchi Blatt¹ & Zuleika Machado Landmann²

RESUMO - A síntese dos hormônios da tireóide é regulada pelo hormônio tireoestimulante hipofisário (TSH), sendo que alterações nesta regulação provocam distúrbios na glândula tireóide, ocasionando tanto um hipertireoidismo, quanto um hipotireoidismo. Esta pesquisa teve como objetivo principal verificar a prevalência de alterações nas dosagens séricas do TSH correlacionando com os dados clínicos dos pacientes atendidos. O estudo foi realizado no Laboratório Escola de Análises Clínicas UNIVALI S.C., no período de agosto a setembro de 2004, o grupo de estudo foi constituído por 270 pacientes de ambos os sexos e com idade entre 20 e 74 anos. A metodologia empregada foi ensaio imunoenzimático por micropartículas para determinação quantitativa do TSH. Dos pacientes analisados 86,3% eram do sexo feminino e 13,7% do sexo masculino. A faixa etária com maior prevalência de alterações nas dosagens de TSH foi entre 38-62 anos para ambos os sexos. O estudo demonstrou que 20,7% (56) dos pacientes atendidos apresentaram algum tipo de alteração do TSH, sendo que a maioria destes 14,9% os valores estavam aumentados e 5,8% abaixo do valor de referência. Observou-se, também, que alguns sintomas clínicos foram mais relevantes neste grupo como, hipertensão, dislipidemia e diabetes. Portanto, a realização de uma investigação laboratorial dos hormônios tireoidianos, principalmente quando se trata de pacientes do sexo feminino, com idade superior aos 40 anos e que apresentem sintomas relevantes demonstrou ser significativo.

PALAVRAS-CHAVE - Tireóide, hormônios, TSH.

SUMMARY - The synthesis of hormones of the thyroid is regulated by the thyroid-stimulatory hormone (TSH), being that alterations in this regulation cause riots in the thyroid gland, causing in such a way a hyperthyroidism, how much a hypothyroidism.

This research had as objective main to verify the prevalence of alterations in the as dosages of the TSH correlating with the clinical data of the taken care of patients. The study School of Clinical Analyses UNIVALI S.C. was carried through in the Laboratory, in the period of August the September of 2004, the group of study was constituted by 270 patients of both the sex and with age between 20 and 74 years. The employed methodology was the method immunoenzymatic assay for microparticles for quantitative determination of TSH. Of analyzed patients 86.3% they were of the feminine sex and 13.7% of the sex masculine. A band with bigger prevalence of alterations in the dosage of TSH were enter 38-62 years for both the sex. The study it demonstrated that 20.7% (56) of the taken care of patients had presented some type of alteration of the TSH, being that majority of these 14.9% was increased and diminished 5.8%. It was also observed that some clinical symptoms had been more excellent in this group as hipertensive, dislipidemia and diabetes. Therefore the accomplishment of a laboratorial inquiry of thyroid hormones, mainly when if it deals with patients of the feminine sex, who possess up age to the 40 years and that they present excellent symptoms demonstrated to be significant. Word-keys: Thyroid, hormones, TSH.

KEYWORDS - thyroid, hormones, TSH.

INTRODUÇÃO

A glândula tireóide completamente desenvolvida está entre os maiores órgãos endócrinos do corpo. Está localizada anteriormente à parte superior da traquéia, próximo a junção com a laringe⁽⁸⁾. A secreção do hormônio tireoestimulante (TSH) pela hipófise é estimulada por um hormônio hipotalâmico liberador da tireotrofina (TRH) e inibida pelos hormônios tireoideanos⁽⁴⁾.

O TSH estimula a tireóide a produzir os hormônios tiroxina (T₄) e triiodotironina (T₃), que inibem a produção de TSH, fazendo, assim, com que haja regulação (mecanismo de *feedback*); porém, se esta regulação for prejudicada poderá haver uma hiper ou hipofunção da tireóide, o que acarretará distúrbios das funções⁽⁹⁾. Existe, também, um controle exercido pela glândula tireóide, regulando a sua síntese de acordo com o suprimento de iodo da dieta⁽¹⁶⁾.

Os principais distúrbios da tireóide são o hipotireoidismo (baixa ou nenhuma produção de hormônios) e hipertireoidismo (produção excessiva de hormônios), doenças que incidem mais em mulheres do que homens⁽⁹⁾.

O hipotireoidismo resulta de uma auto-imunidade contra a glândula tireóide que destrói a glândula⁽⁴⁾. Suas manifestações variam conforme a idade em que se inicia a insuficiência da tireóide, sendo que o hipotireoidismo congênito

traz o aparecimento de um quadro clínico denominado cretinismo, apresentando sintomas como pequena estatura, cabeça grande e pernas curtas, dentição irregular, desenvolvimento sexual retardado e há grande debilidade mental. Já o hipotireoidismo no adulto traz como efeitos fisiológicos mais evidentes: queda da frequência cardíaca, apatia, aumento de peso, engrossamento e tumefação da pele (mixedoma)⁽⁹⁾.

O termo hipertireoidismo refere-se ao aumento da produção de hormônios tireoidianos pelo organismo que, em geral, acarreta a tireotoxicose. Os primeiros relatos de tireotoxicose referem-se a mulheres com quadro clínico de emagrecimento, agitação psicomotora, bócio difuso e oftalmopatia. Embora sua prevalência seja bem menor que o hipotireoidismo, o seu diagnóstico tem que ser feito o mais precoce possível para que seu tratamento seja prontamente instituído, evitando complicações graves e, ocasionalmente, irreversíveis, como alguns tipos de arritmias cardíacas e a piora do quadro de oftalmopatia presentes na Doença de Graves⁽¹⁾.

Em pacientes com hipertireoidismo, pode ocorrer produção de auto-anticorpos IgG contra receptores para TSH nas células foliculares ou epiteliais da tireóide, fazendo com que estas sejam estimuladas de maneira inapropriada, o hipertireoidismo também pode ser induzido em crianças por transferência placentária dos auto-anticorpos⁽²⁾.

Recebido em 15/06/2006

Aprovado em 30/06/2007

¹Bioquímica do Laboratório Escola de Análises Clínicas - UNIVALI/S.C.

²Aluna do curso de Farmácia-Análises Clínicas - UNIVALI/S.C.

Os recursos laboratoriais são imprescindíveis no diagnóstico e acompanhamento da atividade da tireóide, sendo que a dosagem de TSH (BIERSACK, 2004), dos hormônios tireoidianos (T4 e T3 e suas frações livres) dos auto anticorpos contra antígenos citoplasmáticos e de superfície e das células tireoidianas, dentre os anticorpos utilizados, destacam-se Ac antireceptor TSH (TRAB), Ac antiperoxidase tireoideana (TPO) e antitireoglobulina, que representam os testes mais comumente solicitados na avaliação funcional da tireóide. Sendo que os métodos mais utilizados são os imunológicos que possuem alta sensibilidade e especificidade com menos interferentes (1).

Outros exames que podem auxiliar no diagnóstico e acompanhamento de pacientes com disfunção tireoidiana são: Ultra-Sonografia que é utilizada na identificação e mensuração de bócios e nódulos, com caracterização de suas estruturas internas, cintilografia, exame de imagem obtido a partir da emissão de radiação por fármacos radioativos que são concentrados por um ou vários órgãos. No caso da tireóide são mais utilizados os isótopos de iodo, sendo que sua utilização esta na determinação da funcionalidade de nódulos ou massas cervicais e/ou ectópicas e pesquisa de carcinomas diferentes da tireóide, RX – exames radiológicos, RX de tórax ou partes moles do pescoço podem ser úteis na visualização de bócios intratorácicos, demonstrando efeitos compressivos sobre a traquéia (1).

Assim, esta pesquisa objetivou avaliar entre dados obtidos do Laboratório Escola de Análises Clínicas UNIVALI S.C., as dosagens séricas do hormônio TSH, juntamente com os dados clínicos das requisições médicas no período de agosto a setembro de 2004, que foram comparados e analisados com a finalidade de observar a prevalência dos distúrbios tireoideanos nesta população.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Laboratório escola de Análises Clínicas da UNIVALI, no setor de Imunologia. A população em estudo refere-se a pacientes de ambos os sexos e com faixa etária entre 20 a 74 anos de idade que realizaram exames de rotina no período de agosto e setembro de 2004. As amostras foram obtidas através de coleta de sangue em tubos vacutainer, sem anticoagulante, no período da manhã. Após, o material foi submetido à centrifugação por quinze minutos para obtenção do soro, que foi utilizado para as dosagens hormonais de TSH.

Para análise dos níveis do hormônio estimulante da tireóide (TSH), utilizou-se o equipamento AXSYM da ABBOTT, ensaio imunoenzimático de micropartículas para a determinação quantitativa destes hormônios, e o valor de referência utilizado foi fornecido pelo fabricante TSH: 0,49 – 4,67 uUI/mL. A separação dos grupos etários foi feito pela Regra de Sturges, discutindo-se os resultados comparativamente aos objetivos propostos. Este trabalho teve a aprovação da Comissão de Ética em pesquisa da UNIVALI

RESULTADOS

TABELA I
Distribuição de pacientes atendidos no Laboratório Escola de Análises UNIVALI por sexo e idade. Itajaí agosto/setembro 2004, n = 270.

IDADE (anos)	MULHERES		HOMENS	
	(n)	(%)	(n)	(%)
20 - 25	22	8,1	03	1,1
26 - 31	23	8,5	04	1,5
32 - 37	20	7,4	03	1,1
38 - 43	41	15,2	04	1,5
44 - 49	43	15,9	06	2,2
50 - 55	34	12,6	05	1,9
56 - 61	29	10,8	07	2,6
62 - 67	13	4,8	02	0,7
68 - 74	08	3,0	03	1,1
TOTAL	233	86,3%	37	13,7%

TABELA II
Percentual de pacientes com diagnóstico prévio de Hipotireoidismo e Hipertireoidismo conforme sexo e idade. Itajaí agosto/setembro de 2004, n = 270.

IDADE (anos)	HIPOTIREOIDISMO				HIPERTIREOIDISMO			
	Mulheres		Homens		Mulheres		Homens	
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
20 - 25	-	-	-	-	01	0,4	-	-
26 - 31	01	0,4	-	-	-	-	-	-
32 - 37	02	0,7	-	-	-	-	-	-
38 - 43	06	2,2	-	-	-	-	01	0,4
44 - 49	04	1,5	-	-	02	0,7	02	0,7
50 - 55	08	3,0	-	-	01	0,4	-	-
56 - 61	04	1,5	-	-	-	-	02	0,7
62 - 67	02	0,7	-	-	-	-	-	-
68 - 74	01	0,4	-	-	-	-	-	-
TOTAL	28	10,4%	-	-	04	1,5%	05	1,8%

TABELA III
Percentual de pacientes com diagnóstico prévio de Hipotireoidismo e Hipertireoidismo conforme sexo e idade. Itajaí agosto/setembro de 2004, n = 270.

IDADE (anos)	TSH AUMENTADO				TSH DIMINUIDO			
	Mulheres		Homens		Mulheres		Homens	
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
20 - 25	-	-	-	-	-	-	-	-
26 - 31	-	-	-	-	-	-	-	-
32 - 37	-	-	-	-	02	0,7	-	-
38 - 43	02	0,7	-	-	01	0,4	-	-
44 - 49	03	1,1	01	0,4	02	0,7	-	-
50 - 55	01	0,4	-	-	02	0,7	-	-
56 - 61	02	0,7	-	-	-	-	-	-
62 - 67	-	-	01	0,4	-	-	-	-
68 - 74	01	0,4	01	0,4	-	-	-	-
TOTAL	09	3,3%	03	1,2%	07	2,5%	-	-

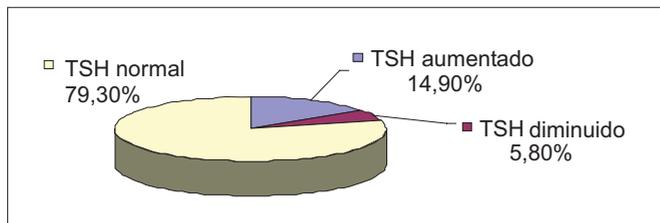


Gráfico 1. Representação dos pacientes com alteração do hormônio TSH. Itajaí, agosto/setembro de 2004, n = 270.

TABELA IV

Frequência das patologias comumente encontradas em pacientes com disfunção tireoidiana em relação a população do estudo. Itajaí agosto/setembro de 2004, n = 56.

PATOLOGIA	PERCENTUAL	
	(n)	(%)
HIPERTENSÃO	7	2,6
DISLIPIDEMIA	6	2,2
DIABETES MELLITUS	5	1,8
OBESIDADE	3	1,1
ARTRALGIA	3	1,1
OUTROS	2	0,7
SEM DADOS CLINICOS	30	11,2
TOTAL	56	20,7%

DISCUSSÃO

A glândula tireóide responde pela produção de hormônios como a triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), que são responsáveis por manter o metabolismo de vários órgãos. Os altos e baixos desses hormônios causam as duas principais doenças da tireóide, hipotireoidismo e hipertireoidismo⁽¹⁵⁾. Estima-se que cerca de 200 milhões de pessoas em todo o mundo sofram de algum tipo de doença da glândula tireóide. Em geral são situações passíveis de tratamento, seja clínico ou cirúrgico⁽¹⁰⁾.

Nas avaliações obtidas pelo presente estudo com 270 pacientes que receberam atendimento no Laboratório Escola, observou-se que 86,3% destes são do sexo feminino e 13,7% do sexo masculino, ambos com idades entre 20 e 74 anos. Houve um predomínio do sexo feminino entre a faixa etária compreendida entre 38 e 61 anos e para o sexo masculino entre 44 e 61 anos.

Segundo Santos (2004), as mulheres são afetadas pelo menos cinco vezes mais que os homens. O início dos sintomas manifesta-se com mais frequência na terceira e quarta década de vida, porém pode aparecer em qualquer idade⁽¹¹⁾. A tabela 2 demonstra que 10,4% da população do estudo apresentou diagnóstico prévio de hipotireoidismo, sendo que este percentual refere-se somente a mulheres, pois o sexo masculino não apresentou nenhum paciente com hipotireoidismo diagnosticado, e as idades mais acometidas pelo hipotireoidismo estão entre 50 e 55 anos (3,0%).

Estas alterações ocorrem devido ao próprio envelhecimento da glândula e a processos orgânicos normais entre outras causas, como por exemplo, a própria gravidez ou menopausa. Por isso, as doenças tireoidianas são cinco vezes mais frequentes em mulheres⁽¹⁵⁾.

Com relação aos pacientes com diagnóstico de hipertireoidismo, observou-se na tabela 2, uma prevalência de 1,5% das mulheres e 1,8% dos homens, sendo que a faixa de idade mais acometida pelas mulheres foi de 44 a 50 anos e homens de 44 a 62 anos de idade, portanto observamos com estes dados a frequência maior de hipotireoidismo no grupo de estudo.

Pode-se verificar na tabela 3 que no grupo de estudo 7% dos pacientes não apresentavam diagnóstico de tireoidopatia e destes 4,5% apresentaram valores de TSH aumentados e 2,5% diminuídos. Neste grupo observou-se uma maior prevalência do sexo feminino. Em geral, entre todas as alterações dos hormônios tireoidianos, a idade mais acometida foi entre 44-61 anos; isto ocorre devido ao envelhecimento trazer consigo manifestações próprias da idade, sendo que a avaliação e a interpretação das provas de função tireoidiana torna-se complexa, pois pode haver doenças não-tireóideas ou uso de drogas que interfiram nesta avaliação⁽¹⁾.

Esta pesquisa demonstrou que 20,7% da população analisada apresentou alguma alteração tireoidiana, sendo que 14,9% apresentou valores do TSH aumentados, 5,8% TSH diminuídos e 79,3% da população não apresentou alterações de TSH (Gráfico 1). A causa desta elevada frequência de patologias tireoidianas é provavelmente, múltipla e pode envolver, além de determinantes genéticos, aspectos nutricionais e fatores ambientais. O conteúdo de iodo pela ingestão de água e alimentos é um problema relevante, sendo que a deficiência nutricional de iodo é a causa mais frequente de bóciós e outras alterações tireoidianas no mundo, afetando 13% da população mundial⁽¹²⁾.

Na grande maioria das vezes, a anamnese e o exame físico conduzem ao diagnóstico da tireopatia. Com o advento de técnicas modernas de dosagens hormonais e o refinamento de métodos de imagem, a propedêutica das doenças tireoidianas vem sendo sofisticada, progressivamente⁽¹²⁾. Porém, algumas alterações podem influenciar de diversas formas a função tireoidiana e devem ser levadas em consideração na análise dos testes⁽³⁾, como interferências de doenças não tireoidianas: psiquiátrica aguda e doenças graves como hepatopatias crônicas, neoplasias e traumatismo cranioencefálico⁽¹⁶⁾.

Vários estudos demonstram que exercícios físicos não causam alteração na função tireoidiana. A má adesão ao tratamento deve ser considerada nos casos de aumento inapropriado de T4 e TSH, que ocorre quando o paciente hipotireóide usa a medicação apenas nos dias que antecedem o exame⁽³⁾.

Existem várias manifestações metabólicas associadas com distúrbios tireoidianos⁽¹³⁾; no entanto, a população estudada apresentou prevalência mais significativa em algumas patologias como demonstrado na tabela 4, onde 2,6% dos pacientes com disfunção tireoidiana apresentaram hipertensão, 2,2% dislipidemia, 1,8% Diabetes mellitus, 1,1% possuem problemas de obesidade e o mesmo percentual com problemas de artralgia, sendo que 11,2% dos pacientes com alterações tireoidianas não apresentavam dados clínicos nas requisições médicas.

Em relação ao sexo, as disfunções tireoidianas afetam mais pacientes do sexo feminino em relação ao sexo masculino. Isto ocorre devido aos estrogênios aumentarem a concentração de Globulina Ligante de Tiroxina (TBG) e assim elevam as concentrações séricas de T4 e T3 no soro, sendo que estes efeitos farmacológicos predominam durante a administração de contraceptivos ou outros usos terapêuticos como reposição hormonal após a menopausa e, também, durante a gravidez⁽⁶⁾.

Devemos enfatizar a importância da investigação laboratorial dos hormônios tireoidianos diante da suspeita clínica, sendo que a ATA (Associação Americana de Tireóide) advoga que a dosagem de TSH é o melhor teste inicial em suspeita de tireotoxicose⁽¹⁴⁾ e TSH complementado por um teste apropriado de T4 livre representa a melhor e mais eficiente combinação de testes para o diagnóstico de hipotireoidismo, sendo que estes parâmetros sugerem o melhor seguimento da maioria dos pacientes com disfunção tireoidiana. A decisão clínica deve basear-se em dados clínicos e laboratoriais, sendo que o TSH é o melhor teste para terapia de reposição e supressão com hormônio tireoidiano⁽¹⁾. Este estudo pôde enfatizar que as doenças da tireóide manifestam-se através de disfunção hormonal, seja por excesso ou por deficiência e, também, por alterações anatômicas devidas ao crescimento difuso ou nodular da glândula. Em conclusão, a prevalência de doenças tireoidianas em pessoas mais velhas é aproximadamente duas vezes maior do que em indivíduos jovens, ocorrendo mais hipotireoidismo em relação ao hipertireoidismo, porém este estudo apenas enfatizou os distúrbios relacionados ao TSH, sendo que para uma melhor avaliação da prevalência de hipotireoidismo e hipertireoidismo na população em estudo seria a dosagem de outros parâmetros laboratoriais, como por exemplo, dosagens de T4 livre, embora não tenha sido efetuados exames confirmatórios houve uma prevalência significativa de alterações de TSH na população estudada.

REFERÊNCIAS

- (1) CARNEIRO, Antônio José V. et al. Clínica Médica – Doenças da Tireóide. São Paulo: Etidora Atheneu, 2003.
- (2) FERREIRA, A. W.; ÁVILA S. L. M. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto – imunes. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996
- (3) GRAF, Hans; CARVALHO G. A. Fatores interferentes na interpretação de dosagens laboratoriais no diagnóstico hipertireoidismo e hipotireoidismo. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia. São Paulo, 2002 Disponível em <http://www.scielo.br> Acesso em 13 de setembro de 2004.

- (4) GUYTON, A. C.; HALL J. E. Tratado de Fisiologia Médica. 10º ed. p. 802, 810. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- (5) HENRY, John B. Diagnósticos clínicos e tratamentos por métodos laboratoriais. São Paulo: Manole, 1999.
- (6) MOREIRA, Têmis D. et al. A incidência do hipotireoidismo co-relacionado a alterações lipídicas e a importância da investigação laboratorial. Ano VIII, nº43 p. 128 e 130. São Paulo: Sky/Anima, 2001
- (7) NUNES, Maria Tereza. Hormônios tireoidianos: mecanismo de ação e importância biológica. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia v. 47 n. 6 São Paulo, 2003. Disponível em <http://www.scielo.br> Acesso em 11 setembro, 2004.
- (8) SPENCE, Alexander P. Anatomia Humana Básica. 2º ed. p. 496. São Paulo: Manole, 1991.
- (9) VARELA, Drauzio. Hipertireoidismo e Hipotireoidismo. Disponível em: <http://www.drauziovarela.com.br> . Acesso em: 20 agosto, 2004.
- (11) SANTOS, Wesley P. Hormônios Tireoidianos. Disponível em: www.maringa-saude.com.br . Acesso em 01 de outubro de 2004.
- (12) PONTES, Alana et al. Prevalência de doenças da Tireóide em uma comunidade do Nordeste Brasileiro. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia. São Paulo, 2002 Disponível em <http://www.scielo.br> Acesso em 13 de setembro de 2004.
- (13) PUNZI, L.; BETTERLE, C. Chronic autoimmune thyroiditis and rheumatic manifestations. Joint Bone Spine. 71, n. 4, p. 275-83, 2004.
- (14) BIRSACK, H et al. Long term changes in serum T4,T3, and TSH in benign thyroid disease: proof of a narrow individual variation. NUKLEARMEDIZIN. vol. 43, n. 5, p. 158-160, 2004.
- (15) MEDEIROS, Geraldo N. Tireóide – Instituto da Tireóide. Disponível em: www.indatir.org.br Acesso em 25 de outubro de 2004.
- (16) FRANCO, S. Bioinforme Sérgio Franco. 6º ed., Rio de Janeiro, 2000.
- (17) PIMENTA, W. et al. Prevalência de tireopatias em uma população de diabéticos. Arq. Brás. Endocrinol. Metab. 41 n. 1. p. 31-4, 1997.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Jucelene Marchi Blatt
Rua Lauro Muller, nº 740 apto 504
CEP. 88301-401 Itajaí/S.C.
Email: blatt@milnegocios.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

Promoção e Realização



SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Câncer colo retal no Brasil: consumo de grãos integrais como prevenção*

Colorectal cancer in Brazil: whole grains consumption as prevention

Patrícia Haas^{1,2}; Alex Anton¹ & Alícia de Francisco¹

RESUMO - Informar epidemiologicamente a situação do câncer colo retal e suas regiões no Brasil, com estimativa para o ano de 2006 e evidenciar estudos sobre o efeito protetor do consumo de grãos integrais para essa neoplasia foi o objetivo deste trabalho. Os dados foram obtidos a partir de levantamento bibliográfico atualizado e consulta ao Instituto Nacional de Câncer (INCA). O desenvolvimento de várias formas mais comuns de câncer resulta de uma interação entre fatores endógenos e ambientais, sendo o mais notável desses fatores a dieta. De todos os casos de câncer, 80 a 90% estão associados a fatores ambientais. Estimativas para o ano de 2006 no Brasil apontaram o câncer colo-retal como o 4º tumor maligno mais freqüente para ambos os sexos. A maior incidência de casos ocorre na faixa etária entre 50 e 70 anos, mas as possibilidades de desenvolvimento já aumentam a partir dos 40 anos. A ingestão de fibras também é baixa no Brasil, onde se observa coincidentemente, uma significativa freqüência de câncer colo retal. Estudos prévios sugerem a diminuição de risco de câncer colo-retal com maior ingestão de verduras, frutas e grãos integrais. O número de casos novos de câncer colo-retal estimados para o Brasil em 2006 é de aproximadamente 11.000 casos em homens e de aproximadamente 14.000 em mulheres, ocupando a quarta colocação geral. É uma doença tratável quando diagnosticada a tempo e possivelmente segundo estudos realizados, o consumo de grãos integrais poderá contribuir para uma menor incidência desta neoplasia.

PALAVRAS-CHAVE - câncer colo retal, grãos integrais, Brasil.

SUMMARY - To inform the epidemiological situation of the occurrence of colorectal cancer in different Brazilian regions with a forecast for 2006, and to document studies about the protective effect of whole grain consumption against this neoplasia was the objective of this work. Data were obtained through a literature review and by consulting National Institute of Cancer (INCA). The development of several of the most common forms of cancer results from the interaction between endogenous and environmental factors, the diet being the most noticeable one of those factors. Of all of the cases of cancer, 80 to 90% are associated to environmental factors. Estimates for the year of 2006 in Brazil, point to colorectal cancer as the 4th most frequent malignant tumor for men and women. The greatest incidence occurring between 50 and 70 year of age, but the possibility of developing the cancer, has already extended to the 40 years old. The ingestion of fibers has decreased in Brazil, where coincidentally a significant colorectal cancer frequency, is observed. Prior studies suggest that the colorectal cancer risk diminishes with higher ingestion of vegetables, fruits and whole grains. The number of new cases of colorectal cancer estimated for Brazil in 2006 is of approximately 11.000 cases in men and of approximately 14.000 in women. It is an accommodating illness when diagnoseked on time and possibly the consumption of integral grains will be able to diminish the incidence of this neoplasia.

KEYWORDS - colorectal cancer, whole grain, Brazil.

INTRODUÇÃO

O câncer é a segunda causa principal de óbito, sendo responsável por mais de 60 milhões de mortes anualmente. Para os anos entre 1960 e 2000, os dados mostram um aumento de 15% para 25% de mortalidade nos países desenvolvidos. Já, nos países em desenvolvimento, observaram-se taxas menores e crescentes, que alcançaram 6% em 1985 e 9% em 1997, com uma expectativa de aumentar, de 5,4 milhões em 2000 para 9,3 milhões em 2020, de acordo com projeções populacionais (WHO, 2002; RIBEIRO *et al*, 2003; GARÓFOLO *et al*, 2004).

No Brasil, anualmente cerca de cem mil indivíduos vão ao óbito por causa do câncer, com uma pequena prevalência do sexo masculino. Em 2006 são esperados 234.570 novos casos de câncer para o sexo masculino e 237.480 para o sexo feminino no Brasil. Estima-se, que o câncer de pele não melanoma (116 mil casos novos) será o mais incidente na população brasileira, seguido pelos tumores de mama feminina (49 mil), próstata (47 mil), pulmão (27 mil), cólon e reto (25 mil), estômago (23 mil) e colo do útero (19 mil). Os tumores mais incidentes para o sexo masculino serão devidos ao câncer de pele não melanoma (55 mil casos novos), próstata (47 mil), pulmão (18 mil), estômago (15 mil) e cólon e reto (11 mil). Para o sexo feminino, destacam-se os tumores de pele não melanoma (61 mil casos novos), mama (49 mil), colo do útero (19 mil), cólon e reto (14 mil) e pulmão (9 mil) (Tabela 1 e 2) (INCA, 2005).

O desenvolvimento das formas mais comuns de câncer resulta de uma interação entre fatores endógenos e ambientais, sendo o mais notável desses fatores a dieta. De todos os casos de câncer, 80 a 90% estão associados a fatores ambientais. Acredita-se que cerca de 35% dos diversos tipos de câncer ocorrem em razão de dietas inadequadas. É possível identificar, por meio de estudos epidemiológicos, associações relevantes entre alguns padrões alimentares observados em diferentes regiões do globo e a prevalência de câncer. Estudos sugerem que o consumo de grãos integrais pode prevenir o desenvolvimento do câncer colo retal na população e muitos estudos conferem esta característica a esse tipo de dieta (WHO, 2002; RIBEIRO *et al*, 2003; GARÓFOLO *et al*, 2004; INCA, 2004).

FONTE DE DADOS

A estimativa para 2006 de câncer colo retal no Brasil, além da incidência das neoplasias neste país, foi baseada em dados oficiais do Instituto Nacional do Câncer (INCA), fonte de referência para dados epidemiológicos brasileiros.

Os dados utilizados neste estudo para a importância dos grãos integrais na prevenção do câncer colo-retal, foram obtidos a partir de levantamento bibliográfico em sites de busca como PubMed (1950 a dezembro de 2005), Web Science (1966 a dezembro de 2005), LILACS (1982 a dezem-

Recebido em 19/07/2006

Aprovado em 23/05/2007

*Centro de Ciências Agrárias/ Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos/ Universidade Federal de Santa Catarina / Brasil.

²Centro de Ciências da Saúde/ Departamento de Análises Clínicas/ Universidade Federal de Santa Catarina/ Brasil.

bro de 2005), Cochrane Library (2005), Trialcentral (2005), National Research Register (2005), EMBASE (1974 a dezembro de 2005), The European Library (2004 a dezembro de 2005), Scopus (1960 a dezembro de 2005), SciELO (1997 a dezembro de 2005). O período de pesquisa foi realizado conforme disponibilidade de cada base e citados após cada uma das bases.

RESULTADOS

Câncer Colo Retal (CCR) é o quarto câncer mais comum no mundo. O número de novos casos de CCR mundial aumentou rapidamente desde 1975 (calcularam então ser 500.000) e afeta homens e mulheres igualmente. No entanto, a incidência de CCR não é comumente distribuída. Por exemplo, em países ocidentalizados (Norte e a América do Sul, Europa Ocidental, Austrália, e nova Zelândia) incidência de CCR em homens é 12,6% e mulheres são 14,1%, ao passo que em CCR de países em desenvolvimento representa 7,7% e 7,9% de todos os casos em homens e mulheres, respectivamente. É calculado que 394.000 mortes ocorrem anualmente devido ao CCR, e este câncer é a segunda causa de morte por câncer nos EUA e terceiro nos países de União Européia; no entanto, sua etiologia não é completamente entendida. Os resultados de estudos sugerem que fatores ambientais e estilo de vida ocidental explicam a maioria de casos de CCR e foi calculado que até 90% de cânceres de cólon nos EUA pode ser atribuído à dieta. A incidência de CCR é diretamente associada à idade. Quando diagnosticado antes de 40 anos de idade, é bem possível a causa ser genética. Três de cada quatro casos de CCR ocorrem no cólon (AHMED, 2004).

Os dados apontam para uma diminuição na mortalidade de câncer de cólon, no período de 1975 a 1988, em Portugal, Grécia, Itália, Espanha e EUA. Imigrantes americanos originalmente da Alemanha, Irlanda, Tchecoslováquia, e Grécia tendem a ter uma incidência mais alta de doença que imigrantes de outros países. Além do mais, aumento na incidência de mortalidade de câncer de cólon foi apontado no Japão e China, assim como em imigrantes nos EUA. Sem intervenção preventiva, aproximadamente 5,6% de americanos desenvolverão câncer de cólon em algum ponto durante sua vida (AHMED, 2003).

O número de casos novos de câncer colo-retal estimados para o Brasil em 2006 é de aproximadamente 11.000 casos em homens e de aproximadamente 14.000 em mulheres. Estes dados correspondem a um risco estimado de 12 casos novos a cada 100 mil homens e 15 para cada 100 mil mulheres. Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer de cólon e reto em homens (Figura 1) é o quarto mais freqüente nas regiões Sul (22/100.000), Sudeste (17/100.000) e Centro-Oeste (10/100.000). Nas regiões Nordeste (4/100.000) e Norte (3/100.000), ocupam a quinta e sexta posição, respectivamente. Para as mulheres (Figura 2), é o segundo mais freqüente (21/100.000) na região Sudeste, o terceiro nas regiões Sul (22/100.000), Centro-Oeste (10/100.000) e Nordeste (5/100.000), enquanto que na região Norte (4/100.000) ocupa a quinta posição (INCA, 2005). Estudos epidemiológicos sugerem que a ingestão do grão integral é um fator protetor contra alguns tipos de câncer como o CCR, diabetes e obesidade. Pesquisas publicadas sobre alimentação integral informam melhoras em biomarcadores

sanguíneos, tal como perda de peso, diminuição de lipídio e proteção antioxidante (SLAVIN, 2004). Existem evidências de que a alimentação tem um papel importante nos estágios de iniciação, promoção e propagação do câncer, destacando-se entre outros fatores de risco. Acredita-se que uma dieta adequada poderia prevenir de três a quatro milhões de casos novos de cânceres a cada ano. Pessoas que comem dietas ricas em frutas e vegetais parecem ter uma baixa incidência de muitos cânceres, incluindo CCR (Tabela 3) (GLANZ, 1997; GARÓFOLO *et al*, 2004; GASTROWEB, 2005; INCA, 2004). Cabe destacar que os ingredientes integrais (e os alimentos produzidos a partir deles) consistem nas sementes, de seus respectivos grãos, em quase sua totalidade, sendo constituídas de três componentes: o farelo, o germe e o endosperma. Enquanto isso, os grãos refinados não apresentam nem o farelo nem o germe, significando que a maioria das vitaminas do complexo B, determinados minerais e fibras alimentares são excluídas (ZIEGLER & GREENER, 1971).

A *World Cancer Research Fund*, 1997, após desenvolver uma revisão bibliográfica com metanálise, envolvendo 129 estudos e analisar outros 13 de caso-controle, considerou convincente a associação das fibras alimentares com a redução do risco de CCR. LARSSON *et al*, 2005, examinaram potencialmente a associação entre consumo integral e risco de CCR. Um total de 61.433 mulheres preencheu um questionário de frequência alimentar no período de 1987–1990, as quais apresentaram uma ligação com o Registro Sueco de Câncer, 805 casos de incidência de CCR foram identificados. Um maior consumo de grãos integrais foi associado com um risco menor de desenvolver o CCR nessas mulheres. A fibra integral é um nutriente rico e confere benefícios à saúde que podem resultar em aumento da longevidade, enquanto a fibra refinada de grão é considerada um nutriente pobre e não oferece proteção (JACOBS *et al*, 2000). Em pesquisa realizada, STEPHEN *et al*, 1999, investigaram se a raridade de CCR em africanos (predomínio <1:100.000) poderia ser explicados por fatores dietéticos que reduziriam o risco e se ocorriam diferenças na fermentação colônica. Concluíram que o predomínio baixo de CCR em africanos não pode ser explicado por fator "protetor" dietético, tal como fibra, cálcio, vitaminas e ácido fólico, mas podem ser influenciado pela ausência de fatores "agressivos", tal como excesso proteína animal e gordura e por diferenças na fermentação colônica bacteriana.

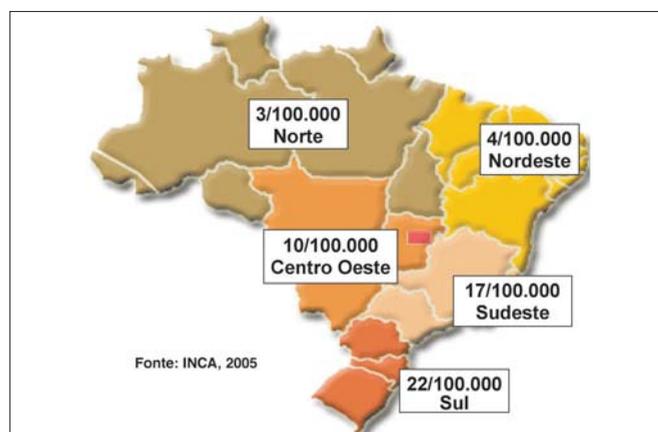


Figura 1. Estimativa da incidência do Câncer Colo Retal em homens no Brasil por região para o ano de 2006.

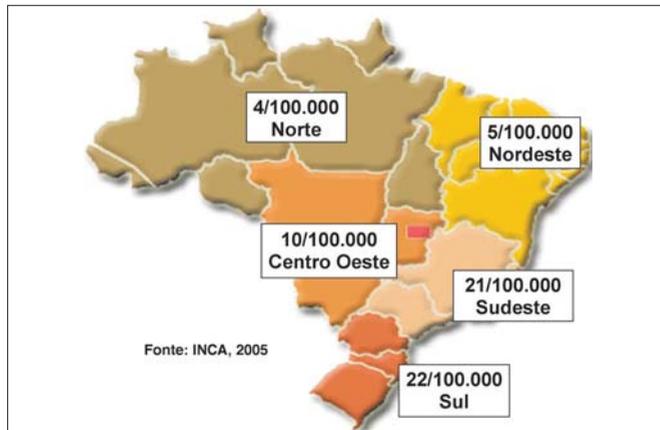


Figura 2. Estimativa da incidência do Câncer Colo Retal em mulheres no Brasil por região para o ano de 2006.

Tabela I

Estimativas para o ano 2006 de número de casos novos por câncer, em homens e mulheres, segundo localização primária.

Localização Primária Neoplasia Maligna	Estimativa dos Casos Novos		
	Masculino	Feminino	Total
Mama Feminina	-	48.930	48.930
Traquéia, Brônquio e Pulmão	17.850	9.320	27.170
Estômago	14.970	8.230	23.200
Colo do Útero	-	19.260	19.260
Próstata	47.280	-	47.280
Colón e Reto	11.390	13.970	25.360
Esôfago	7.970	2.610	10.580
Leucemias	5.330	4.220	9.550
Cavidade Oral	10.060	3.410	13.470
Pele Melanoma	2.710	3.050	5.760
Outras Localizações	61.530	63.320	124.850
Subtotal	179.090	176.320	355.410
Pele não Melanoma	55.480	61.160	116.640
Todas as Neoplasias	234.570	237.480	472.050

Fonte: INCA, 2005.

Tabela II

Tipos de câncer mais incidentes, estimados para 2006, exceto pele não melanoma, na população brasileira.

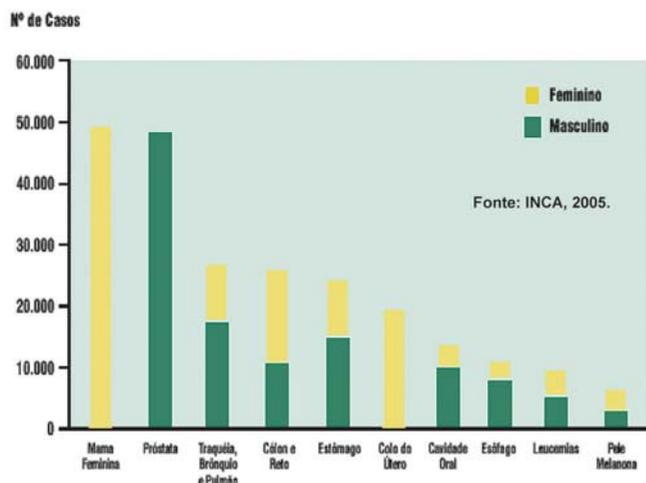


Tabela III

Tipos de câncer mais incidentes, estimados para 2006, exceto pele não melanoma, na população brasileira.

Autor(s)/ano	Tipo de estudo	n/N	Risco relativo (IC* 95%)	Consumo médio
LEVI, F <i>et al</i> (1999)	Intervenção	223/491	0,85 (0,75-0,97)	-
WITTE, J.S <i>et al</i> (1996)	Intervenção	57/488	0,55 (0,33-0,91)	-
JACOBS, D.R <i>et al</i> (2000)	Observação	538/11040	0,83 (0,73-0,94)	4,7 g/dia
LARSSON, S.C <i>et al</i> (2005)	Observação	805/61433	0,65(0,45-0,94)	1,5 a 4,5 porção/dia
JACOBS, Jr. D.R <i>et al</i> (1998)	Revisões Críticas e metanálise	46/51	0,69 (0,61-0,77)	-
MICHELS, K.B <i>et al</i> (2005)	Coorte	919/76947 mulher 593/47279 homem	0,91 (0,87-0,85)	8-14 g/dia
TERRY, P <i>et al</i> (2001)	Coorte	460/61463	1,65 (1,23 - 2,20)	9,3 g/dia
MCCULLOUGH, M.L <i>et al</i> (2003)	Coorte	210/70554 mulher 298/62609 homem	1,86 (1,18-2,94) 1,96 (1,24-3,10)	1,0-14,6 0,8-14,5 porção/semanal
FUNG T, <i>et al</i> (2003)	Coorte	546/76402	W**1,46(0,97-2,19) P***0,71(0,50-1,00)	-
LIN, J <i>et al</i> (2005)	Coorte	223/39876	0,75 (0,48-1,17)	12-26 g/dia
LA VECCHIA, C <i>et al</i> (2003)	Caso controle	Colón 955/10058 Reto 625/10058	Colón a 0,9 (0,7-1,0) b 0,5 (0,4-0,6) Reto a 0,7(0,6-1,0) b 0,6 (0,4-0,8)	1->3 porção/semanal
CHATENOUD, L <i>et al</i> (1998)	Caso controle	Colón 828/7990 Reto 498/7990	Colón a 0,9 (0,7-1,1) b 0,5 (0,3-0,6) Reto a 0,8(0,6-1,1) b 0,7 (0,5-1,0)	-

* IC: intervalo de confiança; W **: dieta ocidental; P***: dieta tipo "prudente"; a consumo intermediário; b consumo alto.

DISCUSSÃO

A presença do câncer na humanidade já é conhecida há milênios. Registros que designam a causa das mortes como câncer passaram a existir na Europa apenas a partir do século XVIII. Desde então, observou-se o aumento constante nas taxas de mortalidade por câncer, que parecem acentuar-se após o século XIX, com a chegada da industrialização (GARÓFOLO *et al*, 2004).

No Brasil, existe uma diferença regional na distribuição dos tumores de cólon e reto, sendo os maiores coeficientes observados nas populações das regiões Sul e Sudeste, que se caracterizam por apresentar o maior nível socioeconômico do país. É importante considerar a hipótese de que, nas regiões Norte e Nordeste do país, muitos óbitos por essa neoplasia podem ocorrer; no entanto, paralelamente, existe um sério problema de notificação, o que levaria à uma incidência menor como relatado. A maior incidência de casos ocorre na faixa etária entre 50 e 70 anos, mas as possibilidades de desenvolvimento já aumentam a partir dos 40 anos. Há evidências médicas comprovando genes anormais nos pólipos. Também, são fatores de risco doenças inflamatórias do cólon como retocolite ulcerativa crônica e doença de crôn; algumas condições hereditárias como a polipose denomatosa familiar (FAP) e câncer colo retal hereditário sem polipose (HNPCC) (SICHERI *et al*, 1992; KOIFMAN, 1995; NEVES, 2002; INCA, 2004).

Observa-se que, no Brasil, a incidência das seis primeiras neoplasias estão associadas a fatores ambientais. Alguns destes fatores são bem conhecidos: cigarro, exposição excessiva ao sol e alguns vírus. Outros estão em estudo, tais como alguns componentes dos alimentos que ingerimos, e muitos são ainda completamente desconhecidos. O enve-

lhecimento traz mudanças nas células que aumentam a sua suscetibilidade à transformação maligna. Esses fatores atuam alterando a estrutura genética (DNA) das células. O surgimento do câncer depende da intensidade e duração da exposição das células aos agentes causadores de câncer (RIBEIRO *et al*, 2003; INCA, 2004).

Fatores ambientais claramente são associados com risco para CCR. Em estudo realizado para avaliar os efeitos da ingestão e o impacto sobre o CCR, evidências indicam que tipos de fibras criam condições diferentes em regiões diferentes do intestino. Os dados de modelos animais mostraram que a fibra insolúvel tem aspecto protetor (YOUNG *et al*, 2005). Há algumas décadas tem sido enfatizado esse efeito protetor da fibra alimentar contra o câncer colo-retal. Este conceito foi sugerido por BURKITT em 1971, que relacionou a elevada ingestão de fibras com a baixa incidência desse tipo de câncer entre a população do leste da África (BURKITT, 1971).

Os grãos integrais incluem o trigo, arroz, milho, aveia, centeio, cevada, triticale, sorgo e milhete. Os grãos mais comumente consumidos são: trigo, aveia, arroz, milho e centeio, sendo que o trigo constitui 66-75% do total. As Diretrizes Dietéticas para Americanos (Departamento de Estados Unidos de Agricultura, 2000), estabeleceram uma diretriz separada para grãos com uma ênfase particular em comer mais alimentos de grãos integrais. É recomendado que ao menos três porções ou metade dos grãos consumidos diariamente sejam integrais (SLAVIN, 2004). O consumo diário de fibra na Europa e nos EUA eleva-se a aproximadamente 20 g, enquanto que as autoridades de saúde e as sociedades de nutrição recomendam um valor de referência de ao menos 30 g diárias (TREPPEL, 2004). No Brasil não existe até o momento nenhuma recomendação oficial para a quantidade ideal de consumo de grãos integrais para brasileiros em sua pirâmide alimentar.

Atenção especial deve ser dada aos grãos e cereais. Se armazenados em locais inadequados e úmidos, esses alimentos podem ser contaminados pelo fungo *Aspergillus flavus*, o qual produz a aflatoxina, substância cancerígena (INCA, 2004).

Vários mecanismos têm sido apontados para explicar o papel das fibras no processo de carcinogênese do cólon. Um deles diz respeito aos efeitos fisiológicos e mecânicos das fibras que, através do aumento do volume das fezes, ou através da diminuição do tempo de trânsito intestinal, facilitarão a remoção dos carcinógenos, co-carcinógenos e/ou promotores do tumor, diminuindo o tempo de contato desses agentes, presentes no conteúdo fecal com a mucosa do intestino. Outro mecanismo considera a capacidade físico-química da fibra de se ligar aos ácidos biliares, retardando ou reduzindo a absorção de lipídios. O terceiro mecanismo proposto está relacionado com a capacidade das fibras de servir como substrato para a fermentação das bactérias presentes no cólon, influenciando a ecologia intestinal e gerando produtos finais fisiologicamente ativos. Essa fermentação contribui para o aumento da massa bacteriana e, conseqüentemente, para o aumento do volume das fezes, e leva à produção de ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato e butirato) que alteram o pH e a microflora intestinal, exercendo efeitos fisiológicos benéficos. Também se observou a promoção de absorção de sódio e água importante para a conservação de eletrólitos. O butirato parece exercer as seguintes funções: fornecer energia para a mucosa intestinal, estimular diferenciação celular e multiplicação das células basais, aumentar a superfície de contato das microvilosidades, aumentar a absorção de cálcio e atividade pancreática e aumentar as secreções das enzimas digestivas (HOWE *et al*, 1992; KLURFELD, 1992; AUSMAN, 1993; NEVES, 2002; SLAVIN, 2004).

No Brasil, para que sejam atribuídas propriedades benéficas à saúde considerando o efeito do consumo dos grãos integrais, sugere-se que a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulamente estes alimentos exigindo concentração mínima de 51 % (cinquenta e um por cento) de ingredientes integrais em suas formulações, conforme parâmetros estudados e estabelecidos nos EUA e Europa. Considerando a quarta colocação do câncer colo-retal no Brasil, verificou-se que é semelhante à frequência mundial desta doença, e que o diagnóstico precoce, como na maioria das neoplasias, é o melhor investimento quando se trata de saúde pública. O câncer colo-retal é uma doença que atinge homens e mulheres em proporções semelhantes, sendo então possível observar que os fatores externos exercem uma influência muito importante no desenvolvimento desse tipo de câncer.

REFERÊNCIAS

1. Ahmed FE. Colon cancer: prevalence, screening, gene expression and mutation, and risk factors and assessment. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*. 2003; 21(2):65-131.
2. Ahmed FE. Effect of Diet, Life Style, and Other Environmental/Chemopreventive Factors on Colorectal Cancer Development, and Assessment of the Risks. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*. 2004; 22(2):1-57.
3. Ausman LM. Fiber and Colon Cancer: Does the Current Evidence Justify a Preventive Policy? *Nutrition Reviews* 1993; 51(2):57-63.
4. Burkitt DP. Epidemiology of cancer of the colon and rectum. *Cancer* 1971; 28(7):3-13.
5. Chatenoud L, Tavani A, La Vecchia C, Jacobs DR, Negri E, Levi F, Franceschi S. Whole grain food intake and cancer risk. *International Journal Of Cancer* 1998; 77(1): 24-28.
6. Fung T, Hu FB, Fuchs C, Giovannucci E, Hunter DJ, Stampfer MJ, et al. Major dietary patterns and the risk of colorectal cancer in women. *Arch Intern Med*. 2003; 10;163(3):309-14.
7. Garófalo A, Avesani CV, Camargo KG, Barros ME, Silva SRJ, Taddei JAAC, Sigulem DM. Dieta e câncer: um enfoque epidemiológico. *Rev. Nutr.* 2004; 17(4):491-505.
8. Gastroweb. Doenças. [Site da Internet] Disponível em: www.gastroweb.com.br/doencas/polipo.htm. Acessado em: 25 junho 2006.
9. Glanz K. Behavioral research contributions and needs in cancer prevention and control: Dietary change. *Prev Med* 1997; 26(5 Pt 2):S43-S55.
10. Howe GR, Benito E, Castelletto R, Cornée J, Estève J, Gallagher RP, et al. Dietary Intake of Fiber and Decreased Risk of Cancers of the Colon and Rectum: Evidence from the Combined Analysis of 13 Case-Control Studies. *Journal of the National Cancer Institute* 1992; 84(24):1887-96.
11. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2005: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2004. ISBN 85-7318-097-8.
12. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2006: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2005. ISBN 85-7318-112-5.
13. Jacobs Jr. DR, Marquart L, Slavin J, Kushi L.H. Whole grain intake and cancer: An expanded review and meta-analysis. *Nutrition And Cancer* 30(2): 85-96, 1998.
14. Jacobs DR, Pereira MA, Meyer KA, Kushi LH. Fiber from whole grains, but not refined grains, is inversely associated with all-cause mortality in older women: The Iowa Women's Health Study. *Journal Of The American College Of Nutrition Suppl.* 2000; 19(3): 326s-330s.
15. Klurfeld DM. Dietary Fiber-Mediated Mechanisms in Carcinogenesis. *Cancer Research* 1992; 52: 2055-59.
16. Koifman S, Minayo M C S. Incidência de Câncer no Brasil. Os Muitos Brasis Saúde e População na Década de 80. São Paulo - Rio de Janeiro: Ed. Hucitec-Abrasco 1995; 143-76.
17. Larsson SC, Giovannucci E, Bergkvist L, Wolk A. Whole grain consumption and risk of colorectal cancer: a population-based cohort of 60 000 women. *British Journal Of Cancer* 2005; 92(9): 1803-1807.

18. La Vecchia C, Chatenoud L, Negri E, Franceschi S. Session: Whole cereal grains, fibre and human cancer – Whole grain cereals and cancer in Italy. *Proceedings Of The Nutrition Society* 2003; 62 (1): 45-49.
19. Levi F, Pasche C, La Vecchia C, Lucchini F, Franceschi S. Food groups and colorectal cancer risk. *British Journal Of Cancer* 1999; 79 (7-8): 1283-1287.
20. Lin J, Zhang SMM, Cook NR, Rexrode KM, Liu SM, Manson JE, et al. Dietary intakes of fruit, vegetables, and fiber, and risk of colorectal cancer in a prospective cohort of women (United States). *Cancer Causes & Control* 2005; 16 (3): 225-233.
21. McCullough ML, Robertson AS, Chao A, Jacobs EJ, Stampfer MJ, Jacobs DR, Diver WR, Calle EE, Thun MJ. A prospective study of whole grains, fruits, vegetables and colon cancer risk. *Cancer Causes & Control* 2003; 14 (10): 959-970.
22. Michels KB, Fuchs CS, Giovannucci E, Colditz GA, Hunter DJ, Stampfer MJ, Willett WC. Fiber intake and incidence of colorectal cancer among 76,947 women and 47,279 men. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 2005; 14 (4): 842-849.
23. Neves FJ. Mortalidade por câncer de cólon e reto e perfil de consumo alimentar em capitais brasileiras. [Mestrado] Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública 2002; 113.
24. Ribeiro LR, Salvadori DMF, Marques EK. *Mutagênese Ambiental*. Canoas: Ed. ULBRA 2003; 356 p.
25. Sichieri R, Lolio CA, Correia VR, Everhar TJE. Geographical Patterns of Proportionate Mortality for the Most Common Causes of Death in Brazil. *Revista de Saúde Pública* 1992; 26(6): 424-30.
26. Slavin JL. Whole grain and human health. *Nutrition Research Reviews* 2004; 17, 99-110.
27. Stephen JD O'Keefe, Kidd M, Espitalier-Noel G, Owira P. Rarity of colon cancer in Africans is associated with low animal product consumption, not fiber. *The American Journal of Gastroenterology* 1999; 94(5):1373-1380.
28. Terry P, Giovannucci E, Michels KB, Bergkvist L, Hansen H, Holmberg L, Wolk A. Fruit, Vegetables, Dietary Fiber, and Risk of Colorectal Cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93:525-33.
29. Trepel F. Dietary fibre: More than a matter of dietetics. II. Application in prevention and therapy. *Wiener Klinische Wochenschrift* 2004; 116 (15-16): 511-52.
30. Witte JS, Longnecker MP, Bird CL, Lee ER, Frankl HD, Haile RW. Relation of vegetable, fruit, and grain consumption to colorectal adenomatous polyps. *Am J Epidemiol*. 1996; 144 (11):1015-25.
31. World Cancer Research Fund. Food, nutrition and prevention of cancer: A global perspective. Washington: American Institute for Cancer Research 1997; 35-71, 508-40.
32. World Health Organization. National Cancer Control Programs: Policies and managerial guidelines. 2nd ed. Geneva: WHO; 2002.
33. Young GP, Hu Y, Le Leu RK, Nyskohus L. Dietary fibre and colorectal cancer: A model for environment - gene interactions. *Molecular Nutrition & Food Research* 2005; 49 (6): 5.
34. Ziegler E, Greener EN. Principles of Milling. In: POMERANZ, Y. *Wheat: Chemistry and Technology*. St. Paul, USA: Ed. Am. Assoc. Cereal Chem., 1971; 115-199.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Patrícia HAAS

Rua Fernando Ferreira de Mello, 172/501-B, Bom Abrigo

CEP. 88085-260 Florianópolis - SC

IFCC WORLDBLAB

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

Promoção e Realização



SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Revista Brasileira de Análises Clínicas

AOS COLABORADORES

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

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

INSTRUÇÕES INICIAIS: A Revista Brasileira de Análises Clínicas (RBAC) é uma publicação trimestral da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC) indexada no ISSN 0370 – 369 x.

LILACS – www.bireme.br
www.bireme.br/abd/P/lista_geral.htm
Portão periódico – www.periodicos.capes.gov.br
Classificação CAPES: Qualis Nacional B
Farmácia, Medicina, Odontologia
www.capes.gov.br <http://www.qualis.capes.gov.br/pesquisa/servletpesquisa>

Ao submeter o original do trabalho, os autores assumem a responsabilidade do trabalho não ter sido previamente publicado e nem estar sendo analisado por outra revista. Todas as contribuições científicas são avaliadas pelos Editores da Revista. Só serão encaminhados aos consultores científicos os artigos que estejam rigorosamente de acordo com as normas especificadas. A aceitação será feita em função da sua originalidade, importância e contribuição científica para o conhecimento da área.

Os artigos para publicação enquadram-se nas seguintes categorias:

Artigos Originais: A Revista Brasileira de Análises Clínicas aceita todos os tipos de pesquisa original nas diferentes áreas de atividade em análises clínicas, incluindo pesquisas em seres humanos e pesquisa experimental. Todos os artigos são avaliados para publicação no menor prazo possível; porém, se você acredita que seu trabalho merece uma avaliação especial para publicação imediata ("fast-track"), indique isso na sua carta aos Editores. Se os Editores concordarem com sua solicitação, todos os esforços serão realizados para revisar o trabalho em menos de 30 dias, e publicar no volume próximo da Revista.

O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Summary; Keywords; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados; Discussão, Conclusão; Agradecimento(s); Fontes de Aquisição, quando houver, e Referências Bibliográficas. Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais realizados de acordo com normas éticas.

Artigos de Revisão ou Bibliográficos: Os Editores formulam convites para a maioria das revisões. No entanto, trabalhos de alto nível, realizados por autores ou grupos com histórico de publicações na área serão bem-vindos.

Editoriais: Os Editoriais da Revista Brasileira de Análises Clínicas são feitos através de convite. Os editoriais enviados espontaneamente, serão analisados pelos editores sobre a importância do seu conteúdo e pertinência de sua publicação.

Comunicações Breves: Experiências originais, cuja relevância para o conhecimento do tema justifique a apresentação de dados iniciais de pequenas séries, ou dados parciais de pesquisas ou ensaios laboratoriais, serão aceitos para avaliação.

Envio do Trabalho: Os originais do trabalho deverão ser enviados via internet seguindo as instruções disponíveis no endereço: <http://www.sbac.org.br/conteudos/rbac/index.htm> do portal da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas. Os textos deverão ser editados em "Word" e as figuras, fotos, tabelas e ilustrações devem vir após o texto, ou em arquivos separados. Figuras devem ter extensão JPEG e resolução mínima de 300 DPI. Todos os artigos devem vir acompanhados por uma carta de submissão ao Editor, indicando a seção em que o artigo deva ser incluído (vide lista acima), declaração do autor de que todos os co-autores estão de acordo com o conteúdo expresso no trabalho, explicitando ou não conflitos de interesse* e a inexistência de problemas éticos relacionados.

SEÇÕES DOS ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO:

Os artigos deverão seguir a seguinte ordem:

Título* (Em português e inglês)
Nome do autor ou autores (dados pessoais no rodapé)
Resumo em português – Palavras – chave
Resumo em inglês – summary / Keywords
Introdução
Material e métodos
Resultados
Discussão
Conclusões
Agradecimentos
Referências bibliográficas

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

TÍTULO – Deverá ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho (em português e inglês).

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

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

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

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

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

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

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

INFORMAÇÕES GERAIS

O estilo editorial da Revista segue, em linhas gerais, o "Style Manual for Biological Journals" (Conference of Biological Editors, Committee on form and Style. Style manual of Biological Journals, 2. ed. Washington, American Institute of Biological Sciences, 1974).

As nomenclaturas, abreviações e unidades bioquímicas e físico-química devem seguir as adotadas pelo "Handbook of Biochemistry (Sober, H. A. – Handbook of Biochemistry, 2. ed. Cleveland, Chemical Rubber Co.,

1997, Sec.A4 – A100), "Handbook of Chemistry Physics" (West, R. C. – Handbook of Chemistry and Physics, 53. ed. Cleveland Chemical Rubber Co., 1972 – 1973), e, essencialmente, o recomendado pela WHO através da: "Resolution WHA 30.30 adopted by thirtieth World Health Assembly, May 1977). Sistema Internacional d'Unites; use of SI units in medicine", e da publicação: "The SI for Health Professions. WHO, 1977".

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

A nomenclatura dos microorganismos devem obedecer os critérios adotados pelo Manual de Beryge (Breed, R. S.; Murray, E. G. D & Smith, N. R. – Beryge's Manual of Determinative Bacteriology, Baltimore, Williams & Wilkins Co., última edição).

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

No texto – As referências no texto devem ser citadas assim:

VALLADA¹ ou (1); Correspondente ao número da lista de referência bibliográfica.

MENDES & CARVALHO (2)

SOUZA, CABRAL & MACHADO (3)

GONTIJO, FILHO et al (4) ou GONTIJO FILHO & cols (4)

VALLADA; MENDES & CARVALHO^{1,2} ou (1,2)

Na bibliografia – A relação das referências bibliográficas deve ser numerada e colocada em ordem alfabética dos sobrenomes dos autores, e seguir o disposto abaixo para artigos ou livros.

a) Para artigos – SOBRENOME(S) DO(S) AUTOR(ES), SEGUIDO DO(S) PRENOME(S) (abreviado ou não desde que haja padronização deste procedimento, separados entre si por ponto e vírgula seguidos de espaço, segundo NBR 6023) – Título do trabalho (em itálico ou negrito). Título do periódico (abreviaturas de acordo com o "Word Scientific Periodicals"), volume e número do volume: número da página inicial e final, ano de publicação.

Exemplos:

1 – VALLADA, E. P. – Cultura de urina. *Rev. Bras. Anál. Clín.*, 1 (1): 21-23, 1969.

2 – MENDES, M. Q. & CARVALHO, M. A. – Padrão múltiplo para dosagem de lipídios séricos, triglicerídeos lipídios totais e colesterol ("Trilico"). *Rev. Bras. Anál. Clín.*, 9 (1): 1-3, 1977.

3 – SOUZA, M. M.; CABRAL, M. C. & MACHADO, R. D. – Técnica de fixação de complemento aplicado ao estudo da raiva. *Rev. Bras. Anál. Clín.*, 8 (2): 17-24, 1976.

4 – GONTIJO FILHO, P. P. & et al – *Micobactérias*. *Rev. Bras. Anál. Clín.*, 10 (4): 1-31, 1978.

b) Para livros – SOBRENOME(S) DO(S) AUTOR(ES), SEGUIDO DO(S) PRENOME(S) (abreviado ou não desde que haja padronização deste procedimento, separadas entre si por ponto e vírgula seguidos de espaço, segundo NBR 6023). Título do livro (em itálico ou negrito); subtítulo (se houver). Número da edição (tradução se for o caso). Local de publicação; Editor, ano de publicação. Número de páginas ou volume. Se particulares páginas são conspurcadas, então cita-las.

1 – MENDES, M. Q. & LOPES, H. J. J. – *Atualização em bioquímica clínica*. 1. ed. Belo Horizonte, Mal Editora S., 1973, 305 p.

2 – HENRY, R. J. – *Química clínica. Bases e princípios*. 1. ed. Espanhola. Barcelona, Editorial Jims, 1969, 2 v.

3 – BURNET, G. W.; SCHERP, H. W. & SCHUSTER, G. S. – *Microbiologia Oral e Doenças Infecciosas*. 4. ed. (1. ed. Brasileira). Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A., 1978, 756 p.

4 – VERONESI, R. – *Doenças Infecciosas e parasitárias*. 4. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A., 1095 p.

5 – CARVALHO, I. – *Antibióticos e antibioticoterapia*. In: VERONESI, R. – *Doenças Infecciosas e parasitárias*, 4. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A., 1969, pt. 9. p. 1017 – 1072.

c) Para Tese: NOME DO AUTOR, SEGUIDO DO PRENOME (abreviado ou não). Título da Tese (em itálico); subtítulo (se houver). Ano de apresentação. Número de folhas. Categoria (grau e área de concentração) – Instituição, local.

CIRIBELLI GUIMARÃES, J. – *Febre Amarela Silvestre*. 1975. 80 p. Tese de Docência Livre – Instituto de Microbiologia da UFRJ. Rio de Janeiro.

d) Para Norma: NOME DO ÓRGÃO NORMALIZADOR. Título: subtítulo (em itálico ou negrito), Número da norma. Local, ano, volume ou páginas.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Informação e Documentação. Referências – Elaboração, NBR 6023. Rio de Janeiro, 2002. 24p.

ILUSTRAÇÕES – Deverão ser citadas no texto como "Fig.", numeradas e vir acompanhadas de legendas explicativas após o texto ou em arquivos separados. Os desenhos, fotos e ilustrações devem ter extensão JPEG e resolução mínima de 300 dpi.

QUADROS E TABELAS – Deverão vir numerados em algarismo arábico e apresentados após o texto ou em arquivos separados. Cabeçalhos e legendas devem ser suficientemente claros e compreensíveis, sem necessidade de consultas ao texto. São permitidas notas explicativas de rodapé indicadas por asteriscos, mas não descrições das experiências. Seguir, o quanto possível, as normas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Nenhuma casa, em quadros ou tabelas, deverá ficar vazia; a ausência de dados será representada por:

– quando o fenômeno não existe;
0;0;0 quando o fenômeno existe, não atingindo o seu valor, porém, o adotado no quadro;
... quando o dado não foi apurado, não implicando, porém, afirmar ou não a existência do fenômeno. Quando o fenômeno for mensurável, deverá ser expresso de maneira a somente figurarem os algarismos significativos.

DA PUBLICAÇÃO

1. A publicação de artigos na Revista está condicionada à aprovação dos Consultores Científicos.
2. Os originais de trabalhos aceitos para publicação não serão devolvidos aos autores.
3. No caso de mais de um autor deverão ser expressamente indicados os responsáveis pela publicação. Na ausência dessa informação, o primeiro será considerado o responsável.
4. Os trabalhos em língua estrangeira serão submetidos a um revisor competente (pelo que será cobrada uma taxa dos autores) e devolvidos se a redação for inadequada.
5. Para correspondência, os autores responsáveis devem fornecer os seus endereços.
6. A reprodução dos trabalhos publicados na Revista será permitida quando citada a origem da publicação:

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Rua Vicente Licínio, 99 - Tel.: 0XX(21)2187-0800 - Fax: 0XX(21)2187-0805
Rio de Janeiro - RJ - 20270-902

Home page: HYPERLINK <http://www.sbac.org.br> www.sbac.org.br - e-mail:
HYPERLINK <mailto:geral@sbac.org.br> teac@sbac.org.br

Correlação entre eosinofilia e protoparasitose por *Giardia lamblia* em crianças

Correlation between eosinophilia and parasitic infections for *Giardia lamblia* in children

Paulo Roberto de Melo-Reis¹, José Alexandre Filizola Diniz-Filho², Karlla Greick Batista Dias-Penna³, Sérgio Henrique Nascente Costa⁴, Mauro Meira de Mesquita⁵, Jairo Batista da Silva⁶, Frank de Souza Castro⁷ & Lee Chen Chen⁸

RESUMO - A relação entre eosinofilia e protozoários é pouco descrita na literatura científica. É importante assinalar que nem todos os parasitos intestinais são capazes de induzir eosinofilia, principalmente aqueles que estão na luz do intestino, sendo mais pronunciada quando há invasão tecidual. Dentre as protoparasitoses mais comuns, notadamente em crianças, destaca-se a giardíase, provocada pela *Giardia lamblia*, parasito do intestino delgado, que causa diarreia e má-absorção. O objetivo deste trabalho foi identificar a existência de correlação entre eosinofilia e protoparasitose por *Giardia lamblia*, utilizando 1598 amostras de pacientes infectados, com idades variando entre zero e dez anos, oriundos da população de Goiânia que procuram o serviço do Laboratório Escola do Departamento de Biomedicina da Universidade Católica de Goiás. Desta amostragem 949 apresentavam eosinofilia (59,4 %). Essa proporção é significativamente diferente da esperada se não houvesse relação entre giardíase e eosinofilia (1:1) ($\chi^2 = 28.16$; $P < 0,01$). Portanto, a eosinofilia é um parâmetro hematológico que deve ser considerado na abordagem e na avaliação do paciente que a apresenta, pois pode sugerir a existência de protoparasitose intestinal por *Giardia lamblia*, e ser um indicativo, com valor preditivo para a incorporação no tratamento conjunto com as doenças causadas por protozoários intestinais, entre outras parasitoses, bem como processos alérgicos.

PALAVRAS-CHAVE - *Giardia lamblia*, eosinofilia, giardíases.

SUMMARY - The relationship between eosinophilia and diseases produced by parasitic protozoa is poorly defined and unfrequently related in the scientific literature. Not all the intestinal parasites are able to induce eosinophilia, but when there is a tissue invasion. Among the most common protoparasitoses, giardiasis produced by *Giardia lamblia* is very prevalent, mainly in children, when may cause diarrhea and malabsorption. The purpose of this work was to investigate the correlation between eosinophilia and the presence of *Giardia lamblia*, by examination of 1,598 samples of feces from patients, with age between zero and ten years old, that were received at School Laboratory of Biomedicine Department at Catholic University of Goiás. From them, 949 presented eosinophilia (59,4%). This proportion was significantly different from that expected if there was not relationship between giardiasis and eosinophilia (1:1) ($\chi^2 = 28.16$; $P < 0,01$). Therefore, we concluded that the eosinophilia is an hematological parameter that should be considered in the approach and in the patient's evaluation. It is suggested that intestinal protoparasitosis with *Giardia lamblia*, may induce eosinophilia, which may have a predictive value. The inclusion of this parameter may help on the diagnosis.

KEYWORDS - *Giardia lamblia*, Eosinophilia, giardiasis.

INTRODUÇÃO

Os eosinófilos são leucócitos granulócitos presentes no sangue em pequena quantidade, com média de aproximadamente 3%. É uma célula binucleada e seu citoplasma possui grânulos específicos que se coram pela eosina (acidófilos). Tais grânulos são lisossomas ricos em fosfatases ácidas. As nucleases presentes são as ribonucleases e as desoxirribonucleases que digerem o RNA e o DNA, respectivamente. Sua vida média é de aproximadamente 13 dias, sendo seis dias em desenvolvimento na medula óssea, um dia na circulação e seis dias no tecido. Os níveis sanguíneos de eosinófilos sofrem variações durante o dia, atingindo maior concentração à meia-noite e menor concentração ao meio-dia^{2,5,12}. Funcionalmente esta célula é capaz de fagocitar bactérias ou qualquer outro material estranho. No entanto a sua principal função não é a fagocitose, mas sim a exocitose da PBM (proteína básica maior), que é tóxica para parasitos, causando a sua morte. Os parasitos estimulam a população de linfócito T-helper a produzir interleucina 4 (IL-4) e interleucina 5 (IL-5). A IL-4 promove aumento de IgE, que se liga à superfície do parasito. A IL-5 ativa os eosinófilos, que se ligam ao imunocomplexo e secretam grânulos com com-

ponentes enzimáticos²⁵. Os eosinófilos também estão muito presentes em reações alérgicas do organismo. Isto ocorre porque o basófilo ou o mastócito, estimulado na reação alérgica, libera o ECF-A (fator quimiotático dos eosinófilos na anafilaxia), que é um fator que atrai e dirige os eosinófilos até o local da alergia¹. O termo eosinofilia, independente da fisiopatologia, refere-se ao aumento de eosinófilos no sangue periférico¹⁰.

A relação entre eosinofilia e protozoários é pouco descrita na literatura científica. É importante assinalar que nem todos os parasitos intestinais, principalmente aqueles que estão na luz do intestino, são capazes de induzir eosinofilia, entretanto é pronunciada quando há invasão tecidual²¹. Neste aspecto torna-se interessante este trabalho, pois as doenças protoparasitárias continuam sendo significantes causas de morbidade e mortalidade no mundo, particularmente nos países subdesenvolvidos, tropicais e subtropicais⁴.

Dentre as protoparasitoses mais comuns, notadamente em crianças, destaca-se a giardíase, provocada pela *Giardia lamblia*, protozoário flagelado de ciclo simples e direto, que possui a forma trofozoítica e cística^{13, 23}. O habitat do trofozoíta é o intestino delgado, onde se multiplica e determina a forma clínica sintomática, enquanto a forma cística

Recebido em 11/09/2006

Aprovado em 10/04/2007

*Trabalho realizado no Laboratório da Área de Saúde do Departamento de Biomedicina - Universidade Católica de Goiás - UCG.

¹Doutorando em Biologia pelo Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Goiás (UFG) e professor do Departamento de Biomedicina da Universidade Católica de Goiás (UCG); ²Professor e pesquisador do Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Geral (UFG) e Professor visitante, UCG; ³Doutoranda em Biologia pelo Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Geral, (UFG) e professora do Departamento de Biomedicina UCG; ⁴Doutorando em Ciências da Saúde - Faculdade de Medicina - UFG. Professor do Departamento de Biomedicina-UCG; ⁵Mestrando do programa Ciências Ambientais e Saúde Biomédico - UCG e coordenador do Laboratório de Análises Clínicas do Departamento de Biomedicina-UCG; ⁶Mestrando do programa Ciências Ambientais e Saúde Biomédico - UCG; ⁷Professor e pesquisador associado ao Departamento de Biomedicina-UCG; ⁸Professora e pesquisadora do Laboratório de Radiobiologia e mutagênese, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Geral, (UFG).

é liberada nas fezes, sobrevive fora do hospedeiro, contamina o ambiente e promove novas infecções por via oro-fecal¹⁷. A giardíase é uma das causas mais comuns de gastroenterites, diarreia e má-absorção^{16,18}.

Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar a existência de correlação entre eosinofilia e protozoarose por *Giardia lamblia*, utilizando amostras de pacientes infectados.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados dois bancos de dados acumulados entre agosto de 2002 a agosto de 2004, de pacientes na faixa etária entre zero a dez anos, oriundos da população de Goiânia que procuraram o serviço do Laboratório Escola do Departamento de Biomedicina da Universidade Católica de Goiás, para a realização de hemograma completo e parasitológico de fezes. Destes bancos de dados foram selecionados um total de 1598 registros de pacientes, que realizaram exame parasitológico de fezes, na faixa etária descrita acima e parasitados exclusivamente pela *Giardia lamblia*. Assim, estes dados foram correlacionados com os valores hematológicos obtidos do leucograma (número total de leucócitos e as contagens relativas e absolutas de eosinófilos).

As amostras de fezes foram coletadas sem conservantes (fezes recentes) e analisadas empregando os métodos de Hoffmann (1934) e Faust (1970). Para a realização do método de Hoffman, utilizamos água aquecida para viabilizar também a identificação de larvas de helmintos que porventura estivessem presentes nas amostras. Já as amostras sanguíneas foram obtidas por punção venosa, utilizando solução comercial de anticoagulante EDTA (Etilenodiamino tetracético) a 10 g/dl, e analisadas em aparelho automatizado Pentra-60 (ABX®). Foi definido como critério para a eosinofilia com tolerância estatística quando os eosinófilos sanguíneos excederam a 500/mm³ ou 0,50 x 10⁹/l, ultrapassando em 25% os limites de referência para idade e sexo recomendados por vários autores^{2, 7, 10, 12}.

Para a análise estatística, as frequências observadas foram comparadas à frequência esperada sob a hipótese nula de que não há diferença entre o número de pacientes com e sem eosinofilia (1:1) utilizando-se o teste de qui-quadrado - χ^2 - (Zar, 1999), para cada faixa etária e para o total dos pacientes e foi calculada também uma correlação linear de Pearson entre a frequência de pacientes com eosinófilos e o centro da faixa etária.

RESULTADOS

O número de eosinófilos sanguíneos variou entre 0 e 4671 células/mm³, com média igual a 538 ± 365 células/mm³, e mediana igual a 428 células/mm³. Do total de 1598 amostras de crianças de um mês a dez anos de idade, parasitados por *Giardia lamblia*, 949 apresentavam eosinofilia (59,4%). Essa proporção é significativamente diferente da esperada se não houvesse relação entre giardíase e eosinofilia (1:1) ($\chi^2 = 28.16$; $P < 0,01$).

As frequências de pacientes com eosinofilia variaram entre 0.542 (para a faixa etária 4) e 0.671 (para a faixa etária 3). Valores significativos de χ^2 ($P < 0,05$) foram obtidos para as classes 2 e 3 (Tabela 1). Entretanto, não foi encontrada correlação significativa entre a frequência de pacientes com eosinofilia e a faixa etária ($r = -0.441$; $P = 0.174$), de modo que não há correlação entre o aumento ou diminuição da eosinofilia associada a giardíase com a idade.

Tabela 1

Frequência de protozoarose por *Giardia lamblia* e eosinofilia em crianças de um mês a dez anos de idade.

IDADE	TOTAL	COM	SEM	%	χ^2
	EXAMINADO	EOSINOFILIA	EOSINOFILIA		
1 mês a < 1 ano	62	36	26	58,1	0,806
1 ano a < 2 anos	158	105	53	66,5	8,556
2 anos a < 3 anos	207	139	68	67,2	12,176
3 anos a < 4 anos	188	102	86	54,4	0,680
4 anos a < 5 anos	186	110	76	59,1	3,107
5 anos a < 6 anos	162	97	65	59,9	3,160
6 anos a < 7 anos	176	98	78	55,7	1,136
7 anos a < 8 anos	161	94	67	58,4	2,263
8 anos a < 9 anos	148	83	65	56,1	1,094
9 anos a 10 anos	150	85	65	56,7	1,333
TOTAL	1598	949	649	59,4	28,160

DISCUSSÃO

As eosinofílias induzidas por helmintos são bem estudadas, mas poucos trabalhos têm demonstrado que a *Giardia lamblia* também é capaz de induzir eosinofilia no hospedeiro^{11,15,20}. A fisiopatologia das giardíases no homem merece atenção e alguns pontos carecem de esclarecimentos, como por exemplo a relação entre eosinofilia e *Giardia lamblia*. Com os dados apresentados, pode-se observar que a maior parte das crianças parasitadas por *Giardia lamblia*, de um modo geral, apresenta eosinofilia maior do que as não parasitadas²⁶.

Neste trabalho não foram excluídas outras causas de eosinofilia, assume-se, portanto, que a frequência esperada seria igual a 50%, em virtude da ação aleatória, nos pacientes, desses outros fatores^{14,22}. No entanto, o presente estudo sugere que há uma associação entre giardíase e eosinofilia. Além disto, o protozoário *Giardia lamblia* pode originar processos de hipersensibilidade no local do parasitismo, promovendo a eosinofilia, bem como aumento de IgE. Assim, este parasito pode causar alterações na fisiologia intestinal levando o hospedeiro a desenvolver resposta contra o agente agressor^{3, 9,19, 24, 26}.

A forma clínica de manifestação da giardíase é muito diversificada, variando desde indivíduos assintomáticos a sintomáticos, sendo que estes últimos podem apresentar quadro de diarreia aguda, autolimitada e persistente com má-absorção e perda de peso¹⁶. É certo que a *Giardia lamblia* causa um processo inflamatório no intestino e induz a formação de imunoglobulinas das classes IgA e IgE, que propiciam a identificação e ativação das células efetoras (no caso, os eosinófilos), promovendo assim um processo lítico do parasito que é denominado citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpo^{1, 3, 9, 18,19, 24, 26}.

Portanto, a eosinofilia é um parâmetro hematológico muito importante, devendo ser considerada na abordagem e na avaliação do paciente que a apresenta, pois pode sugerir a existência de protozoarose intestinal por *Giardia lamblia*. Além disso, pode ser um indicativo, com valor preditivo para a incorporação no tratamento conjunto com as doenças causadas por protozoários intestinais, entre outras parasitoses, bem como nos processos alérgicos^{9, 14, 16, 22, 24, 26}.

REFERÊNCIAS

1. Abbas, AK; Lichtman, AH; Pober, JS. Cellular and Molecular Immunology. 3ª ed. 1998.
2. Bernard, J., J. P. Lévy, B. Varet. J. P. Clauvel. J. D. Rain & Y. Sultan. Hematologia. 9ª Ed. Medsi. Rio de Janeiro, RJ. 2000.
3. Crespo Guerrero, V.; Alfonso Fernández, L.A. & Gomes Echevarria, A.H. Giardia lamblia allergenic extract as diagnosis procedures for determining sensitization to this protozoa. J. Investig. Allergol. Clin. Immunol. 1(6):373-376, 1991.
4. De Carli, G. A., Mentz, M., et al. - Prevalência das enteroparasitoses nas vilas periféricas da grande Porto Alegre, nos assentamentos de trabalhadores rurais e na cidade de Arroio dos Ratos, no Estado do Rio Grande do Sul. RBAC, 29(3): 185-189, 1997.
5. Epstein H. F. Eosinophilia. N Engl J Med. 338:1592-99, 1998.
6. Faust, E.C.; Russell, P.F. & Jung, R.C. Clinical Parasitology. Lee & Febiger, Philadelphia. USA, 1970.
7. Henry, J. B. Diagnóstico clínico & tratamento por métodos laboratoriais. 18ª ed. Editora Manole. 1995
8. Hoffman, W.A.; Pons, J.A. & Janer, J.L. Sedimentation-concentration method in Schistosomiasis mansoni. J. Publ. Health Trop. Med. 9:283-298, 1934.
9. Jiménez, J.C.; Fontaine, J.; Grzych, J.M.; Dei-Cas, E. & Capron, M. Systemic and mucosal responses to oral administration of excretory and secretory antigens from Giardia intestinalis. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 11(1):152-160, 2004.
10. Lee, G. R. et al. Wintrobe Hematologia Clínica. Editora Manole, 1998.
11. Lertanekawattana, S.; Wichatrong, T.; Shaisari, K.; Uchikawa, R. & Arizono, N. Immunological characteristics of patients infected with common intestinal heminths: results of study based on reverse-transcriptase PCR. Ann. Trop. Med. Parasitol. 99(1):71-80, 2005.
12. Lorenzi, T. F. Manual de Hematologia. Propedêutica e Clínica. 3ª Ed. Medsi. São Paulo, SP. 2003.
13. Machado, E.R. & Costa-Cruz, J.M.; Strongyloides stercoralis and other Enteroparasites in Children at Uberlândia City, State de Minas Gerais, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, vol.93 (2): 161-164. Rio de Janeiro Mar./Apr. 1998.
14. Mendes, D.M.; Camargo, M.F.; Aun, V.V.; Fernandes, M.F.M.; Aun, W.T & Mello, J.F. Eosinófilo, atopia, doença alérgica. Rev. bras. alerg. imunopatol. 23(2):84-91, 2000.
15. Moro-Furlani, A.M. & Krieger, H. Familial analysis of eosinophilia caused by helminthic parasites. Genet. Epidemiol. 9(3):185-190, 1992.
16. Ortiz-Arduan, A.; Castilho, J.M.; Carreira, J.; López Cubero, L.; Miranda, R. & Jiménez Casado, M. Gastroenteritis with eosinophilia caused by Giardia lamblia. Rev. Clin. Esp., 187(2):68-70, 1990.
17. Paget, T.A.; Macechko, T. & Jarroll, E.L. Metabolic changes in Giardia intestinalis during differentiation. J. Parasitol., 84(2):222-226, 1998.
18. Ramos, E. P.; Oramas, B. G.; Garcia, A. R.; Fernandez, T. R. & Ávila, J. P. Malabsorption due to Giardia lamblia: correlation between histopathological changes and D-Xylose test. Rev. Cuba. Med. Trop. 37(1):47-54, 1985.
19. Rodriguez-Garcia, A.J.; Belmares-Taboada, J. & Hernandez-Sierra, J.F. Ascariis lumbricoides-caused risk factors for intestinal occlusion and subocclusion. Cir Cir. 72(1):37-40, 2004.
20. Roitt, I. Brostoff, J. & Male, D. Imunologia. 3ª ed. Editora Manole. 1993.
21. Rue, M. L. Eosinofilia devida a parasitas. Rev. Brás. Anal. Clin. 33(4):221-223, 2001.
22. Santos, J.L. & Vituri, C.L. Some hematimetric findings in human Giardia lamblia infection. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo; 38(2):91-5, 1996.
23. Silva, E.M.A.; Nunes, M.P.O., Nunes, J.F.L. & Costa, M.S. - Incidência de parasitoses intestinais em servidores do Restaurante Universitário do Campus da UFRN. RBAC, 27(2): 51-52, 1995.
24. Troyano, L.R. & De la Coba, R. A. Giardia lamblia: prevailing parasite in patients with allergic manifestations. Rev. Cuba. Med. 24(10):1057-1062, 1985.
25. Ustun, S.; Turgay, N.; Delibas, S.B. & Ertaabklar, H.; Interleukin (IL) 5 levels and eosinophilia in patients with intestinal parasitic diseases. World J Gastroenterol; 10 (24):3643-6, 2004.
26. Varela, J. & Siso, C. Eosinophilic pleural effusion during the course of a giardiasis. Report of a case. Med. Clin. 72(2):57-60, 1979.
27. Zar, J.H. Biostatistical analysis 4 ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Paulo Roberto de Melo Reis
Universidade Católica de Goiás
Departamento de Biomedicina
(LEPAH-LAS-CBB) – Área IV – Bloco H – Sala 209
Av. Universitária 1069 – Setor Universitário
CEP. 74605-010 Goiânia - Go
Endereço eletrônico: pauloroberto@ucg.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

Promoção e Realização



SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

IFCC-WorldLab Fortaleza 2008



**20th International Congress of Clinical Chemistry and
Laboratory Medicine**

35th Brazilian Congress of Clinical Analysis

8th Brazilian Congress of Clinical Cytology

Fortaleza - Brazil

28 September - 02 October 2008

SCIENTIFIC SECRETARIAT
SOCIIDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS - SBAC

Rua Vicente Licínio, 95 Tijuca
Rio de Janeiro, RJ cep. 20.270-902

Phone: +55 21 2187-0800 Fax: +55 21 2187-0805

E-mail: geral@sbac.or.br - www.sbac.org.br

ORGANIZING SECRETARIAT

EMMEZETA CONGRESSI

Via Carlo Farini 81

20159 - Milano - Italy

Phone: +39 0266802323 - Fax: +39 026686699

E-mail: info@fortaleza2008.org - www.fortaleza2008.org