

RBAC

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

A RBAC é classificada como Qualis Internacional A em farmácia.



Consolidando o Futuro das
Análises Clínicas no Brasil

SUMÁRIO

Doença Hipertensiva Específica da Gestação (DHEG), incidência à evolução para a Síndrome de HELLP....	243
<i>Janaina Angonesi & Angelita Polato</i>	
Specific Hypertensive illness of Gestation (DHEG), incidence to the evolution for the Syndrome of HELLP	
Prevalência de anticorpos igG e igM anti-<i>Toxoplasma gondii</i> em gestantes atendidas nas unidades básicas de saúde do município de Londrina – Paraná, no período de 2003 e 2004.....	247
<i>Olga Nishimura Mandai; Fabiana Maria Ruiz Lopes & Regina Mitsuka-Breganó</i>	
Prevalence of antibodies igG and igM anti- <i>Toxoplasma gondii</i> in pregnant woman assisted in the unidades básicas de saúde of Londrina – Paraná, in the period of 2003 and 2004	
Análise do polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição para MspI no intron 6 do <i>TP53</i> em pacientes com câncer do colo do útero.....	251
<i>Tatiana Medeiros Galvão, Thales Allyrio Araujo de Medeiros Fernandes, Christiane Medeiros Bezerra & Rosely de Vasconcellos Meissner</i>	
Analysis of the <i>TP53</i> intron 6 MspI restriction fragment length polymorphism in cervical carcinoma patients	
Deteção do genoma de HPV em pacientes com carcinoma espinho-celular da laringe: Comparação entre os ensaios de PCR convencional e em tempo real.....	255
<i>Cunha DMC; Silva AMTC; Curado MP; da Silva CC & da Cruz AD</i>	
Detection of HPV genome in patients with squamous cell carcinoma of the larynx: Comparison between conventional and real time PCR assays	
Análise da prática e atitude sobre o exame preventivo de câncer de colo de útero em uma comunidade universitária.....	259
<i>Deisimara Racho & Vera Regina Andrade Vargas</i>	
Analyses of practice and behaviors about the pap smear of feminine university population	
Prevalência de HPV de baixo e alto risco pela técnica de biologia molecular (Captura Híbrida II*) em Santa Catarina.....	265
<i>Júlio Araújo Zampirolo, Júlio Cezar Merlin & Maria Elizabeth Menezes</i>	
Prevalence of HPV of low and high-risk for the technique of molecular biology (Hybrid captures II*) in Santa Catarina	
Sorologia para o vírus da Hepatite E em gestantes: clinicamente importante ou desnecessário?.....	269
<i>Caio M. M. de Cordova, Solange L. Blatt, Tatiani K. R. Botelho & Eduardo M. Dalmarco</i>	
Serology for Hepatitis E virus in pregnant women: clinically important or unnecessary?	
Reação em cadeia da polimerase (PCR) no diagnóstico da infecção pelo <i>Trypanosoma cruzi</i> em camundongos.....	275
<i>Claudia T. Miyamoto; Mônica L. Gomes; Aline V. Marangoni; Silvana M. Araújo; Ana Paula T. Liberati; Rafael Ferreira P. Cabral; Maria Terezinha Bahia; Marta de Lana & Max Jean O. Toledo</i>	
Polymerase chain reaction (PCR) for <i>Trypanosoma cruzi</i> infection diagnosis in mice	
Avaliação do nível sérico de antígeno prostático específico (PSA) em pacientes da cidade de Campo Mourão-PR.....	279
<i>Thessa Nogueira Gonçalves & Sidney Edson Mella Junior</i>	
Evaluation of the serum level of prostate-specific antigen (PSA) in patients from the city of Campo Mourão – PR	
Influência do Uso Contínuo de Fluoxetina nas Dosagens Séricas de Prolactina em Mulheres.....	283
<i>Carlos Eduardo Leite, Fernanda B Nunes, Melissa G S Pires, Adroaldo Lunardelli, Francisco R Lhullier, Macilvia R Martins & Jarbas R. de Oliveira</i>	
Influence of the Continuous Use of Fluoxetine in the Measurement of Serum Prolactin in Women	
Cervicite por <i>Chlamydia trachomatis</i> em Mulheres Sexualmente Ativas Atendidas em um Serviço Privado de Ginecologia na Cidade de Fortaleza.....	287
<i>Renata Mirian Nunes Eleutério; José Eleutério Junior; Paulo César Giraldo & Angela Maria Veras Muniz</i>	
<i>Chlamydia trachomatis</i> Cervicitis in Sexual Active Women From a Private Gynecologic Service in Fortaleza City	
Brinquedos em uma brinquedoteca: um perigo real?.....	291
<i>Ana Paula Carrasco Borges Freitas; Michelle Cristina Ferreira da Silva; Tatiane Cruz de Carvalho; Maria Auxiliadora Mancilha Pedigone & Carlos Henrique Gomes Martins</i>	
Toys in a playroom: a real danger?	
<i>Mycoplasma hominis</i> e <i>Ureaplasma</i> sp. em amostras do trato geniturinário e sua relação com sintomas de infecção genital.....	295
<i>Gisele de Souza Avelar; Sonia Aparecida Sgarione Bertão; Rubia Andrea Falleiros de Pádua; Rosilene Fressatti Cardoso & Vera Lucia Dias Siqueira</i>	
<i>Mycoplasma hominis</i> and <i>Ureaplasma</i> sp. in genitourinary specimens and their association with symptoms of genital infection	
Atividade antibacteriana de extrato de gervão frente cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> oxacilina-sensíveis e oxacilina-resistentes isoladas de amostras biológicas.....	299
<i>Luiz Mário da Silva Silveira; Luzilene Sousa Rosas; Roberto Sigfrido Gallegos Olea; Eliezer Carneiro Gonçalves & Deurival Coelho da Fonseca Junior</i>	
Antibacterial activity of gervão extract against <i>Staphylococcus aureus</i> oxacillin-sensitive and oxacillin-resistant strains isolated from biological samples	
Suscetibilidade à novobiocina na identificação de amostras de <i>Staphylococcus coagulase negativos</i> (SCoN) isolados de hemoculturas.....	303
<i>Pedro A. d'Azevedo; Alinne G. de Souza; Anderson F. Santos; Tiago Sales; Tomas Chagas Neto & Antonio C. Pignatari</i>	
Susceptibility to the novobiocin in the identification of isolates of <i>Staphylococcus coagulase negative</i> (SCoN) isolated from blood cultures	
Estudo da prevalência da infecção genital por papilomavirus humano em mulheres no climatério.....	305
<i>Dra Linda Emiko Suzuki, Dr. José Mendes Aldrighi, Dr Israel Nunes Alecrin & Dra Cecilia Roteli Martins</i>	
Prevalence of human papillomavirus infection in climacterical women	
Anticorpos anti-eritrocitários em pacientes com Coombs direto positivo infectados com malária por <i>P. vivax</i> e <i>P. falciparum</i>.....	311
<i>Cristina Motta Ferreira; Maria das Graças da Costa Alecrim; William Antunes Ferreira; Felicien Gonçalves Vasquez & Nelson Abraham Fraiji</i>	
Anti-erythrocytes antibodies in patients with positive direct Coombs infected with <i>P. vivax</i> and <i>P. falciparum</i> malaria	

4

VOLUME 39

2007



Prezados colegas,

Esta edição da RBAC tem para todos nós que compomos a Sociedade Brasileira de Análises Clínicas um significado bem especial. Ela marca o 40º aniversário de fundação da SBAC.

A RBAC tem um significado bem especial exatamente por priorizarmos o lado científico e, embora o mercado queira nos transformar, essa nossa essência não vai mudar nunca.

Somos uma sociedade científica por natureza filosófica e nos últimos 40 anos temos nos dedicado integralmente para que essa nossa vontade, de fazer e levar ciência a todos os rincões deste nosso imenso Brasil, não seja em vão e nem desapareça.

Nossa preocupação sempre é possibilitar que o menor laboratório existente no nosso país seja tão bom tecnicamente quanto o maior.

E, neste sentido, a RBAC cumpre um papel relevante.

É ela quem acaba por ser a grande companheira de estudantes da graduação, de mestres e doutores na hora de se atualizar em muitos lugares pelo Brasil e quando um de nós, assessores da SBAC, vamos às universidades e vemos a RBAC nas bibliotecas, sobre as mesas, sentimos, sim, uma grande satisfação: a de que estamos realizando um grandioso e nobre trabalho em prol da saúde de nosso país.

E esta edição também tem outro caráter comemorativo. A Revista Brasileira de Análises Clínicas, RBAC, foi classificada pela comissão de avaliação do Programa Qualis, da Capes, na categoria Internacional A, como periódico com fator de impacto igual ou superior a mediana da área de farmácia, tendo como referência base para a classificação dos periódicos de circulação internacional o JCR (Journal Citation Reports).

A RBAC, também, mantém a classificação Qualis Nacional B em Medicina I, Medicina II, Multidisciplinar e Saúde Coletiva, por estar indexada no LILACS e ser editada por sociedades científicas nacionais representativas da área, no caso a SBAC.

Isto significa que os artigos publicados nesta Revista são válidos como requisitos de publicação dos programas de Mestrado e Doutorado, dentro e fora do país.

Por último, estamos a 11 meses do maior congresso mundial da área laboratorial, o 20º Worldlab IFCC 2008 que será realizado em Fortaleza (CE), no período de 28/09 a 02/10/2008. Estamos trabalhando arduamente. Em paralelo com ele, estaremos realizando o 35º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas e o 8º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica. Todos cuidados com muito zelo e carinho.

E para que você, assinante e leitor da RBAC, tenha já uma noção do que teremos pela frente, estamos publicando nas últimas páginas deste exemplar a grade científica preliminar do evento. Vale a pena conferir.

Por tudo isso, deleite-se e aproveite a “nossa” revista científica.

Um abraço,

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: Internacional A - Farmácia,

Nacional B - Medicina I e II, Multidisciplinar e Saúde Coletiva.

Farmácia, Medicina, Odontologia
www.capes.gov.br - <http://qualis.capes.gov.br/webqualis/ConsultaPeriodicos.faces>

Tiragem: 4.900 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. Jerolimo 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 (PR)



SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS®

FILIAÇÃO

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

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 - Asociación Mercosur de Normalización:

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;
Goiás: 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. Jerolimo 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.

Doença Hipertensiva Específica da Gestação (DHEG), incidência à evolução para a Síndrome de HELLP*

Specific Hypertensive illness of Gestation (DHEG), incidence to the evolution for the Syndrome of HELLP*

Janaina Angonesi¹ & Angelita Polato²

RESUMO - Introdução: A Doença Hipertensiva Específica da Gestação (DHEG) é o distúrbio mais comum na gestação. Esta patologia caracteriza-se por hipertensão acompanhada de proteinúria e/ou edema, sendo estes chamados de tríade da DHEG. Classifica-se a DHEG em duas formas básicas: pré-eclâmpsia (forma não convulsiva marcado pelo início da hipertensão aguda após a vigésima semana de gestação) e eclâmpsia, que é um distúrbio hipertensivo gestacional que se caracteriza pelos episódios convulsivos conseqüentes a efeitos cerebrais profundos da pré-eclâmpsia. A Síndrome de HELLP é uma grave complicação da gestação caracterizada por: (H) hemólise, (EL) enzimas hepáticas elevadas e (LP) baixa contagem de plaquetas. Aproximadamente 2% das mulheres com a síndrome de HELLP e 8% dos bebês morrem em decorrência da síndrome.

Metodologia e Resultados: Foi realizada uma revisão nos prontuários de pacientes gestantes e parturientes com diagnóstico (DHEG), com o intuito de verificar a incidência à Síndrome de HELLP (SH). O estudo foi realizado em 154 prontuários de pacientes portadoras de DHEG, onde, destes, 13 (8,44%) tiveram o diagnóstico de SH, está de acordo com a literatura, que diz que a incidência da SH varia de 2 a 12%.

PALAVRAS-CHAVE - Doença hipertensiva específica da gestação (DHEG), síndrome de HELLP, eclâmpsia, pré-eclâmpsia.

SUMMARY - Introduction: Specific the hypertensive illness of Gestation (DHEG) is the riot most common in the gestation. This pathology characterizes for followed hypertension of proteinúria and/or edema, being these calls of triad of the DHEG. It is classified DHEG in two basic forms: eclâmpsia daily pay (not convulsive form marked by the beginning of the acute hypertension after the twentieth week of gestation) and eclâmpsia that is a gestational hypertensive riot that if characterizes for the consequent convulsive episodes deep the cerebral effect of the daily pay-eclâmpsia. The Syndrome of HELLP is a serious complication of the gestation characterized for: (h) hemólise, (EL) high hepatic enzymes e (LP) low counting of plaquetas. Approximately 2% of the women with the syndrome of HELLP and 8% of the babies die in result of the syndrome.

Methodology and Results: A revision in handbooks of gestates and parturient patients with diagnosis was carried through (DHEG), with intention to verify the incidence to the Syndrome of HELLP (SH). The study it was carried through in 154 handbooks of carrying patients of DHEG, where, of these, 13 (8.44%) had had the SH diagnosis, it is in accordance with the literature, that that says the incidence of the SH varies of 2 12%.

KEYWORDS - specific hypertensive illness of the gestation (DHEG), syndrome of HELLP, eclâmpsia, pay-eclâmpsia.

INTRODUÇÃO

Os distúrbios hipertensivos são as complicações médicas de maior relevância durante o período gravídico-puerperal. O termo "hipertensão na gravidez" é usualmente utilizado para descrever desde pacientes com discreta elevação dos níveis pressóricos, até hipertensão grave com disfunção de vários órgãos. As manifestações clínicas, embora possam ser similares, podem ser decorrentes de causas diferentes².

Na identificação das formas de manifestação da hipertensão arterial na gravidez é fundamental diferenciar a hipertensão que antecede a gravidez daquela que é condição específica da mesma. Na primeira, a elevação da pressão arterial é o aspecto fisiopatológico básico da doença, a segunda é resultado da má adaptação do organismo materno à gravidez, sendo a hipertensão apenas um de seus achados. O impacto dessas duas condições, sobre mãe e feto, é bem diferente, assim como seu controle¹⁴.

A Doença Hipertensiva Específica da Gestação (DHEG) é o distúrbio mais comum na gestação. O diagnóstico da DHEG se faz por volta da 24^a (vigésima quarta) semana de gestação¹⁵.

Esta patologia caracteriza-se por hipertensão acompanhada de proteinúria e/ou edema, sendo estes chamados de tríade da DHEG^{7,18}. Classifica-se a DHEG em duas formas básicas: pré-eclâmpsia (forma não convulsiva marcado pelo início da hipertensão aguda após a vigésima semana de gestação)^{2,3,8,9,13,14} e eclâmpsia, que é um distúrbio hipertensivo

gestacional que se caracteriza pelos episódios convulsivos conseqüentes a efeitos cerebrais profundos da pré-eclâmpsia^{2,3,8,10,13,14}.

A eclâmpsia é responsável por uma parcela significativa dos casos de mortalidade materna e perinatal sendo freqüentemente associada à complicações de órgãos vitais como SNC, o fígado e os rins. Apesar de submetida à extensiva investigação nos últimos anos, a fisiopatologia da eclâmpsia continua matéria puramente especulativa, sendo sua etiologia desconhecida⁴.

As complicações da DHEG afetam muitos sistemas orgânicos, como os sistemas cardiovasculares, renal, hematológico, neurológico, hepático e uteroplacentário; tais como: descolamento da placenta, prematuridade, retardo do crescimento intra-uterino, morte materno-fetal, oligúria, crise hipertensiva, edema pulmonar, edema cerebral, trombocitopenia, hemorragia, acidente vascular cerebral, cegueira, intolerância fetal ao trabalho de parto e a Síndrome de HELLP¹¹.

A Síndrome de HELLP é uma grave complicação da gestação caracterizada por: (H) hemólise, (EL) enzimas hepáticas elevadas e (LP) baixa contagem de plaquetas^{1,4,5,7,8,9,12,14,16}. Algumas gestantes desenvolvem somente uma ou duas dessas características da síndrome de HELLP. Esse quadro é denominado de SH parcial.

As manifestações clínicas podem ser imprecisas, sendo comuns queixas como: dor epigástrica, mal estar geral, náuseas, vômitos, cefaléia, dor na parte superior do abdômen, e até sintomas semelhantes a uma síndrome viral inespecí-

Recebido em 18/09/2006

Aprovado em 24/05/2007

*Trabalho realizado no Hospital Universitário de Maringá (HUM), no Serviço de Prontuário do Paciente.

¹Aluna de Pós Graduação do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR); ²Doutora em Ciências Biológicas - Hospital Universitário de Maringá (HUM)

fica^{9, 11, 14, 15}. Dado que a maioria desses sintomas é comum em gestações normais e se assemelha aos sintomas de outras doenças, a SH é difícil de diagnosticar. O diagnóstico precoce é, iminentemente, laboratorial e deve ser pesquisado de maneira sistemática nas mulheres com pré-eclâmpsia/eclâmpsia e/ou dor no quadrante superior direito do abdome¹⁴.

Embora a causa da HELLP ainda não seja completamente entendida, a síndrome pode levar à insuficiência cardíaca e pulmonar, hemorragia interna, hematoma hepático, insuficiência renal aguda, acidente vascular cerebral, eclâmpsia e outras complicações graves que podem levar à morte materna. Ela também pode levar a placenta a se descolar prematuramente da parede uterina, o que pode resultar em morte fetal. Outras complicações sérias para o feto incluem crescimento uterino restrito e síndrome da angústia respiratória. Aproximadamente 2% das mulheres com a síndrome de HELLP e 8% dos bebês morrem em decorrência da síndrome^{5, 9}.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este é um trabalho de levantamento de dados de prontuários, onde se propõe avaliar todas as pacientes gestantes e parturientes que tiveram diagnóstico da doença hipertensiva específica da gestação (DHEG), com o intuito de verificar a incidência à Síndrome de HELLP (SH), no período entre 1º de janeiro de 2004 a 31 de maio de 2006, no Hospital Universitário de Maringá (HUM).

O estudo foi realizado em 162 prontuários de pacientes portadoras de DHEG. Os dados foram obtidos por meio de um roteiro elaborado com questões referentes a patologia em questão.

Dentre as características relacionadas às pacientes hipertensas, avaliou-se: idade; cor e níveis pressóricos. Bem como exames laboratoriais, dentre eles: desidrogenase láctica (LDH); transaminase oxalacética (TGO); transaminase pirúvica (TGP); plaquetas; hematócrito (Ht); hemoglobina (Hb) e proteinúria de 24 horas, assim como alguns sintomas e queixas das pacientes. Todas as informações registradas foram provenientes da revisão da história clínica e exames realizados pelas pacientes durante a internação hospitalar (anotados no prontuário).

RESULTADOS

O estudo constituiu da análise de 162 prontuários de gestações complicadas pelas síndromes hipertensivas.

Destes 162 prontuários, 8 não foram analisados pela ausência ou precariedade de informações. Desta forma, trabalhou-se com o universo de 154 prontuários.

Dos 154 casos diagnosticados com DHEG, 13 casos (8,44%), foram diagnosticados com síndrome de HELLP (fig. 1).

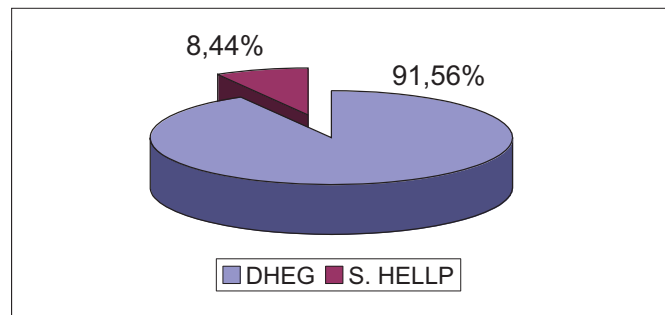


Figura 1: casos diagnosticados com Síndrome de HELLP

TABELA I

Exames laboratoriais alterados encontrados nos casos diagnosticados com Síndrome de HELLP.

Enzimas hepáticas elevadas	LDH	100%
	TGO	100%
	TGP	61,5%
Plaquetas		100%
Hematócrito (Ht)		92,3%
Hemoglobina (Hb)		92,3%

A tabela 1 mostra o perfil dos exames laboratoriais alterados na síndrome de HELLP.

A faixa etária das pacientes com S. HELLP variou de 15 a 42 anos, todas de raça branca.

Constatou-se também que 4 pacientes (30,76%) foram submetidas a transfusão de plaquetas; uma das 13 pacientes (7,7%) teve gestação gemelar e, 1 óbito fetal.

Dentre as queixas mais comumente relatadas entre as pacientes estão: dor na região lombar, cefaléia, dor e desconforto abdominal, dor no baixo ventre, vômito, sonolência, turvação visual.

DISCUSSÃO

Dos 154 casos analisados, 13 casos (8,44%) tiveram o diagnóstico de Síndrome de HELLP, e está de acordo com a literatura, que diz que a incidência da SH varia de 2 a 12%^{8,14}.

A síndrome de HELLP caracteriza-se por anemia hemolítica, alteração hepática e trombocitopenia⁸.

A anemia hemolítica microangiopática é o marco da SH. É atribuída a deformidade e destruição das hemácias na microcirculação, secundárias ao dano endotelial, com subsequente vasoespasmos e deposição de fibrina nas paredes vasculares^{8,14}, que também conduzem à ativação, agregação e ao maior consumo das plaquetas (plaquetopenia)^{6,8,14}.

A lesão hepática que classifica a síndrome é a necrose parenquimatosa ou periportal. É improvável que a lesão hepática na SH seja apenas decorrente de constrição da artéria hepática. Existe também diminuição no fluxo sanguíneo portal. Estas alterações podem ser responsáveis pela elevação das enzimas hepáticas^{8,14}.

A idade das pacientes variou de 15 a 42 anos, e quanto a questão racial, houve 100% de pacientes da cor branca, estando de acordo com a literatura, onde relata que, embora qualquer gestante possa contrair a SH, algumas correm maior risco, incluindo aquelas que são brancas^{8,9,14}, primigestas jovens/ adolescentes, e com idade superior a 35, 40 anos^{2,3,8,10,11,18}, e gestação múltipla^{3,8,18}.

Em relação às queixas relatadas pelas pacientes diagnosticadas com a síndrome, estão de acordo com a literatura onde afirma que, cerca de 90% das pacientes referem dor na parte superior direita do abdômen, cefaléia, vômito, sonolência^{5, 9, 11, 16}, entre outras.

O diagnóstico da SH é baseado em dados laboratoriais: hemólise (anemia); enzimas hepáticas elevadas (TGO, TGP e LDH) e baixa contagem de plaquetas^{5, 8}.

Segundo PERACOLI¹⁴, a literatura diverge em relação aos valores dos parâmetros que definem a síndrome, e também não existe consenso quanto ao diagnóstico da síndrome de HELLP parcial, o que pode ser observado através deste trabalho. Não foi registrado nenhum óbito materno, e um óbito fetal (7,7%). Segundo a literatura, a mortalidade materna varia de 3,4% a 24,2% e a mortalidade perinatal, de 8% a 60%^{8, 9, 14}.

REFERÊNCIAS

1. ABBADE, J. F., PERACOLI, J. C., COSTA, R. A. A. et al. Partial HELLP Syndrome: maternal and perinatal outcome. São Paulo Med. J., 2002, vol. 120, nº.6, p. 180-184.
2. BEZERRA, E. H. M., ALENCAR JUNIOR, C. A., FEITOSA, R. F. G. et al. Mortalidade materna por hipertensão: índice e análise de suas características em uma maternidade-escola. Rev. Bras. Ginecol. Obstet., set. 2005, vol.27, no.9, p.548-553. ISSN 0100-7203.
3. BURROUGHS, A. Uma Introdução à "Enfermagem Materna. 6ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas 1995
4. COSTA, S. M. Complicações da doença hipertensiva da gestação. Disponível em <http://www.sogirgs.or.br>, 2004. Acessado em 15/04/2006.
5. CUNHA, S. P. da, DUARTE, G., PATTA, M. C.. Síndrome de Hellp. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP. Disponível em <http://www.sogesp.com.br> Acessado em 12/04/2006.
6. DUSSE, L. M. S., VIEIRA, L. M. e CARVALHO, M. das G. Revisões sobre alterações hemostáticas na doença hipertensiva específica da gravidez (DHEG). J. Bras. Patol. Med. Lab., 2001, vol37, nº4, p.267-272 ISSN 1676-2444
7. DUSSE, L. M. S., VIEIRA, L. M. e CARVALHO, M. das G. Avaliação do dímero D (D-Di) na doença hipertensiva específica da gravidez (DHEG). J. Bras. Patol. Med. Lab., jul./set; 2003, vol.39, nº.3, p.199-202. ISSN 1676-2444
8. GANEM, E. M. e CASTIGLIA, Y. M. M. Anestesia na Pré Eclâmpsia. Revis. bras. Anesthesiol. jul./ago. 2002, vol.52, nº4, p. 481-497. ISSN 0034-7094
9. JAKOBI, Heinz Roland. Síndrome de HELLP. Disponível em <http://www.jakobi.com.br>, 2005. Acessado em 23/05/2006.
10. LEAL, M. V. P. Conhecimentos e sentimentos de mulheres portadoras de doença hipertensiva específica da gravidez.15/11/2003. Disponível em <http://www.unifor.br/hp/revista> Acessado em 25/05/2006.
11. NETTINA, S. M. Prática de Enfermagem 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogam 2003
12. NUNES, F.; CAMPO, A. P.; AVILLES T.; RODRIGUES, R.; MEIRINHO, M. Corticoterapia na Síndrome de HELLP (Hemólise, enzimas Hepáticos Elevados e Trombocitopenia). Disponível em: <http://www.setamedicaportuguesa.com>, 2004. Acessado em 23/05/2006.
13. OLIVEIRA, C. A. de, LINS, C. P., AS, R. A. M. de et al. Síndromes hipertensivas da gestação e repercussões perinatair. Revis. bras. Saúde Mater. Infant., jan./mar. 2006, vol.6, nº.1, p.93-98 ISSN 1519-3829
14. PERACOLI, J. C. e PAPPINELLI, M. A.. Síndromes hipertensivas da gestação: identificação de casos graves. Rev. Bras. Ginecol. Obstet., out. 2005, vol.27, no.10, p.627-634. ISSN 0100-7203
15. PEREIRA, M. B., SALUM, J. F., COLUCCI, D., FERRAZ, P. E., UNO, F., FA-RAH, M. E. Videoangiografia digital com a fluoresceína sódica e indocianina verde hipertensiva específica da gestação. Obtido via internet, <http://www.abonet.com.br>, 2005. Acessado em 10/03/2006.
16. PIAN, C. D. Ética e Saúde - Help! Help!! HeIIIIp! Um grito por socorro. Disponível em <http://www.eca.usp.br>,2002. Acessado em 10/04/2006.
17. TEDESCO, J. J. de A. a grávida suas indagações e as dúvidas do obstetra. São Paulo: Ed. Atheneu 1999.
18. ZIEGEL, E. E. Enfermagem Obstétrica. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara 1985

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Janaina Angonesi
Pça Farroupilha, 220
CEP. 87033-050 Maringá - PR
j_angonesi@hotmail.com



*Sociedade
Brasileira de
Análises
Clínicas*

A SBAC facilita para você ir
ao maior congresso mundial
de Análises Clínicas.

Promoção de Aniversário

*Inscrições a R\$ 400,00 até 31 de março.
Corra e aproveite!*

Maiores informações: 21 2187-0800 - geral@sbac.org.br - www.sbac.org.br

IFCC WorldLab 2008

20th International Congress of Clinical Chemistry
35º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
8º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica



28 de setembro a 02 de outubro 2008
Fortaleza - CE - Brasil

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

Prevalência de anticorpos igG e igM anti-*Toxoplasma gondii* em gestantes atendidas nas unidades básicas de saúde do município de Londrina – Paraná, no período de 2003 e 2004*

Prevalence of antibodies igG and igM anti-*Toxoplasma gondii* in pregnant woman assisted in the unidades básicas de saúde of Londrina – Paraná, in the period of 2003 and 2004

Olga Nishimura Mandai; Fabiana Maria Ruiz Lopes & Regina Mitsuka-Breganó

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi conhecer a soroprevalência da toxoplasmose em gestantes atendidas nas Unidades Básicas de Saúde de Londrina – Paraná, UBS, e fornecer dados que possam contribuir na formulação de políticas de saúde materno-infantil. Foi realizado um estudo retrospectivo dos resultados de testes sorológicos para *Toxoplasma gondii* (IgG e IgM) em 5861 gestantes, no período entre janeiro de 2003 e dezembro de 2004. Foram excluídas 22 gestantes com resultados indeterminados. Das 5.839 gestantes que restaram, 56,6% eram IgG reagentes (IC 95%: 55,3 – 57,8%), destas, 1,7% foram, também, IgM positivas. Houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,005$) em relação à procedência das gestantes: 68,9% da zona rural eram positivas, contra 55,7% da zona urbana (OR= 1,80; IC 95%: 1,36-2,39). A soroprevalência aumentou com a faixa etária e foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$) nas faixas de 12 a 30 anos e de 31 a 50 anos (OR= 0,69; IC 95%: 0,61-0,79). Esses resultados demonstram a elevada prevalência da toxoplasmose em gestantes de Londrina e medidas de controle devem ser adotadas para diminuir a incidência e complicações dessa infecção.

PALAVRAS-CHAVE - Toxoplasmose, Prevalência, Gestantes.

SUMMARY - The aim of this work was to know the seroprevalence of toxoplasmosis in pregnant women assisted in the Unidades Básicas de Saúde of Londrina - Paraná, besides supplying data that can contribute to the formulation of policies of maternal-infantile health. A retrospective study of the results of *Toxoplasma gondii* (IgG and IgM) tests was accomplished in 5.861 pregnant woman, between January of 2003 and December of 2004. Presenting uncertain results of 22 pregnant were excluded. Of the 5.839 pregnant remained, 56.6% were IgG-positive (95% CI: 55.3 – 57.8%), and, of these 1.7% were also IgM-positive. There was statistically significant difference ($p < 0.005$) in relation to the pregnant origin: 68.9% of the rural area was positive, against 55.2% of the urban area (OR 1.8; 95% CI; 1.36-2.39). The seroprevalence increased with the age group and it was statistically significant ($p < 0.001$) among the groups from 12 to 30 years and from 31 to 50 years (OR 0.69; 95% CI: 0.61-0.79). These results demonstrate the high prevalence of toxoplasmosis in the Londrina, and control measure should be adopted in order to reduce the incidence and complications of that infection.

KEYWORDS - Toxoplasmosis, Prevalence, Pregnant.

INTRODUÇÃO

A pesar da elevada frequência de infecções inaparentes, a toxoplasmose pode desencadear uma doença sistêmica severa como ocorre na forma congênita, na qual a mãe ao infectar-se pela primeira vez durante a gestação pode apresentar uma parasitemia temporária com lesões focais desenvolvidas ainda na placenta, podendo infectar o feto (DUBEY, 1977). O parasito atinge o concepto via transplacentária causando danos de diferentes gravidades, dependendo da virulência da cepa do parasito, da capacidade da resposta imune da mãe e do período gestacional em que a mulher se encontra, e pode resultar em morte fetal ou em graves sintomas clínicos (SPALDING *et al.*, 2003). Embora a gravidade da doença, no feto, seja inversamente proporcional à idade gestacional, ou seja, no início da gestação as lesões são mais graves; a taxa da transmissão vertical é diretamente proporcional à idade gestacional a qual a mãe se encontra quando adquire a primoinfecção, variando de 6% no início da gestação à 80% no último mês (PINARD; LESLIE; IRVINE, 2003).

A prevalência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* apresenta variações regionais, devido à diferenças climáticas e, sobretudo, culturais da população (COUTO *et al.*, 2003). A prevalência da toxoplasmose, em gestantes, no Brasil é muito variável. Souza *et al.* (2002) encontraram, em Santarém – Pará, uma prevalência de IgG anti-*Toxoplasma gondii* de 82,9%; Spalding *et al.* (2003) encontraram uma

prevalência, no Noroeste do Rio Grande do Sul, de 74,5%; Nascimento *et al.* (2002), na Bahia, de 64,9% e em Londrina – Paraná, Reiche *et al.* (2000), encontraram uma prevalência de 67% em gestantes atendidas no Hospital Universitário. O diagnóstico precoce e o tratamento antiparasitário adequado da gestante demonstraram ser capazes de reduzir a taxa de transmissão para o feto e a gravidade das seqüelas nos casos em que a infecção intra-uterina já ocorreu (HOHLFELD *et al.*, 1989; FOULON; NAESSENS; DERDE, 1994). Conhecer as características epidemiológicas da infecção em humanos e animais em cada ecossistema é fator determinante para a conduta com as gestantes que contribuirão para a implantação de medidas de prevenção, diminuindo os fatores de risco através da educação em saúde, e de protocolos de acompanhamento das gestantes, a fim de diminuir a incidência e as seqüelas da toxoplasmose congênita. Assim sendo, este trabalho teve como objetivo conhecer a soroprevalência da toxoplasmose em gestantes atendidas nas Unidades Básicas de Saúde (UBS) do município de Londrina – PR, e que realizaram exame no Laboratório Municipal (Centrolab), além de fornecer dados que possam contribuir para a formulação de políticas de saúde materno-infantil.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo dos resultados dos testes sorológicos para toxoplasmose em 5.861 gestantes atendidas nas UBS entre janeiro de 2003 e dezembro de

Recebido em 25/07/2006

Aprovado em 11/07/2007

Departamento de Ciências Patológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Brasil.

2004 e que realizaram o exame no Centrolab. O levantamento foi realizado através de dados contidos no sistema Hygia de informática da rede Municipal de Saúde. Amostras de soro das gestantes foram testadas utilizando o método Imunoensaio Enzimático de Micropartículas - MEIA (AxSYM, Abbott Laboratories) para a determinação quantitativa de anticorpos IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii*; foram considerados apenas os resultados obtidos nos exames realizados no primeiro atendimento pré-natal. A análise estatística, dos resultados, foi realizada no programa Epi-Info 6.04 (CDC-Atlanta) (DEAN *et al.*, 1994) para o cálculo da razão de chances (OR) e significância, determinada através do teste do qui-quadrado.

RESULTADOS

Foram encontradas 5.861 gestantes no sistema Hygia, destas foram excluídas da análise 22 gestantes que apresentaram resultados indeterminados. Das 5.839 gestantes restantes, 3.304 (56,6%) foram IgG reagentes (IC 95%: 55,3 - 58,5%), sendo que, destas 97 (1,7%) foram também IgM reagentes (Figura 1).

A informação sobre a procedência, zona urbana ou zona rural, pode ser obtida de 5.251 gestantes (89,9%), que colheram amostras de soro nas UBS de origem. As 588 restantes colheram amostras diretamente no Centrolab, portanto, não foi registrado o local de origem. Foram consideradas zona rural, as UBS localizadas nos 13 distritos rurais pertencentes ao Município de Londrina. Houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$), onde 68,9% das gestantes da zona rural foram reagentes, contra 55,7% das gestantes da zona urbana (OR = 1,80; IC = 95%: 1,36 - 2,39) (Figura 2, Tabela 1).

A soroprevalência aumentou com a faixa etária e foi estatisticamente significativa ($P < 0,001$) entre 12 a 30 anos e 31 a 50 anos (OR = 0,69; IC = 95%: 0,61 - 0,79) (Figura 3, Tabela 1).

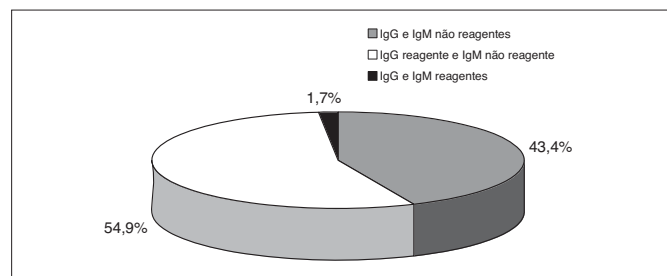


FIGURA 1. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em gestantes atendidas nas Unidades Básicas de Saúde, no período de 2003 e 2004, no município de Londrina - PR.

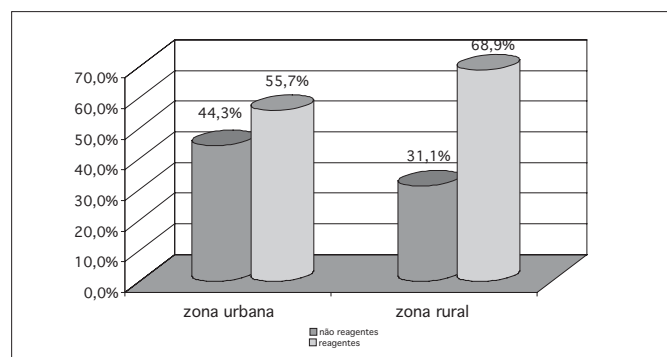


FIGURA 2. Prevalência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em gestantes atendidas nas Unidades Básicas de Saúde, segundo a procedência, no período de 2003 e 2004, no município de Londrina - PR.

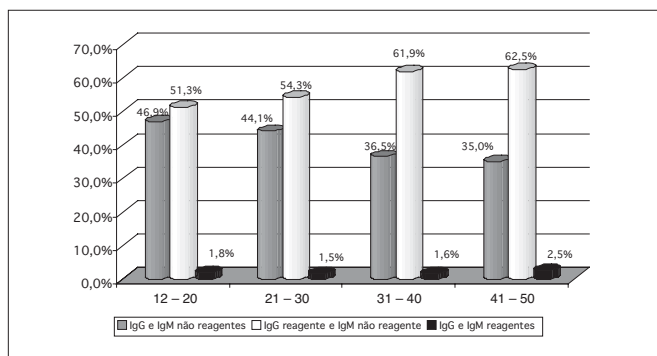


FIGURA 3. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em gestantes atendidas nas Unidades Básicas de Saúde, segundo a faixa etária, no período de 2003 e 2004, no município de Londrina - PR.

TABELA I
Ocorrência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes atendidas nas Unidades Básicas de Saúde conforme a faixa etária e a procedência, no período de 2003 e 2004, no município de Londrina - PR.

Variáveis	Reagentes (%)	Não reagentes (%)	OR (IC 95%)	Valor de p	Total
Procedência					
Zona rural	173 (68,9%)	78 (31,1%)	1,80	< 0,001	251
Zona urbana	2.784 (55,7%)	2.216 (44,3%)	(1,36-2,39)		5.000
Indeterminada					588
Total					5.839
Faixa etária					
12 - 30 anos	2.545 (54,8%)	2.101 (45,2%)	0,69	< 0,001	4.646
31 - 50 anos	759 (63,6%)	434 (36,4%)	(0,61 - 0,79)		1.193
Total					5.839

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A prevalência de 56,6% (IC 95% 55,3 - 58,5), encontrada neste trabalho, demonstra que a toxoplasmose é muito comum em Londrina - PR. Resultado semelhante foi encontrado por Navarro *et al.* (1998) na região Norte do estado do Paraná, de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma* foi de 55,7% das gestantes examinadas, sendo que destas, seis (4,3%) apresentaram título maior ou igual a 1:1024, indicando uma possível infecção aguda.

Reiche *et al.* (2000) encontraram uma prevalência de 67,0% de IgG e 1,8% de IgM, esta aparente diferença pode ser devida à origem das gestantes pesquisadas, pois estas eram as atendidas no Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina - PR, que é referência no município para o tratamento da toxoplasmose em gestante. Os resultados encontrados neste trabalho assemelham-se ao encontrado em Campinas, Estado de São Paulo, por Stella (2004), que analisando 2.199 gestantes, encontrou a soroprevalência de IgG em 56,1%; 2,5% de IgM e 2,2% de sorologia duvidosa. Entretanto, índices superiores de IgG anti-*Toxoplasma gondii* foram encontrados por Souza *et al.* (2002), em Santarém - Pará, de 82,9%; Spalding *et al.* (2003), no Noroeste do Rio Grande do Sul, de 74,5% e Nascimento *et al.* (2002), na Bahia, de 64,9%.

A soroprevalência aumentou com a faixa etária e foi estatisticamente significativa entre as faixas de 12 a 30 anos e de 31 a 50 anos. Isto demonstra que esta infecção é adquirida ao longo da vida e que a prevalência de anticorpos específicos (IgG) para *T. gondii* é diretamente proporcional à

REFERÊNCIAS

faixa etária. Spalding *et al.* (2005) também demonstraram, em gestantes, que taxas de soropositividade aumentaram significativamente com a idade, de 55,6% a 100%.

Com relação à procedência, este estudo demonstrou diferença estatisticamente significativa entre as gestantes da zona rural e urbana. A prevalência maior na zona rural sugere que os fatores de risco de infecção devem ser maiores, porém estudos posteriores devem ser realizados para a determinação desses fatores. Este resultado se assemelha ao encontrado por Spalding *et al.* (2005), na região noroeste do Rio Grande do Sul, onde a prevalência também foi maior na região rural (78%) que na urbana (71,3%). Os autores associam este fato à maior exposição das gestantes da zona rural ao *Toxoplasma gondii*, devido às suas atividades relacionadas à terra, portanto com maior exposição aos oocistos. Outros fatores também são mencionados como: ausência de abastecimento público de água, de coleta de lixo e ainda o consumo de embutidos caseiros.

Outros relatos na literatura demonstram que a toxoplasmose pode chegar a ser o dobro nas populações rurais em relação à urbana (HALL; RYAN; BUXTON, 2001) e muito diferente em populações de diversas raças e costumes dentro de uma mesma comunidade (PEREZ, 1992).

Neste trabalho, foram pesquisadas as gestantes atendidas nas UBS, assim sendo, estes resultados não podem ser extrapolados para a população em geral, uma vez que não foram avaliadas as gestantes que fazem pré-natal nos serviços particulares.

As gestantes soronegativas corresponderam 43,4%, sendo estas as de maior risco de adquirir a infecção e passar para o feto. Um índice consideravelmente alto e que requer medidas de monitoramento sorológico ao longo da gestação, já que a toxoplasmose, na mãe, é na maioria das vezes assintomática, além de um programa de prevenção da infecção baseado na educação em saúde.

No Brasil, não existe um protocolo de acompanhamento sorológico em gestantes, como foi demonstrado por Mozzatto e Procianoy (2003), em um estudo sobre incidência da toxoplasmose congênita no Sul do Brasil; em um estudo prospectivo, realizado em Passo Fundo – RS, em 1.250 gestantes, constataram que em relação ao pré-natal, 58% das gestantes realizaram cinco ou mais consultas, 1.001 realizaram pelo menos uma sorologia para toxoplasmose, destas, 498 fizeram mais de um teste, 187 não fizeram nenhum teste e 62 não souberam informar. Apenas 38,9% realizaram sorologia para toxoplasmose no 1º trimestre da gestação. A incidência foi determinada em 8:10.000 nascidos vivos.

Em alguns países como França e Áustria, a pesquisa sorológica mensal em gestantes soronegativas é obrigatória. Tal procedimento reduziu a incidência da toxoplasmose fetal de 40% para 7% (SPALDING *et al.*, 2003).

Dados sobre a prevalência e a incidência da toxoplasmose congênita e a determinação dos fatores de risco envolvidos na transmissão são imprescindíveis para estabelecer medidas de controle e prevenção. A elaboração de um programa de controle da toxoplasmose congênita, com implantação de um protocolo de monitoramento das gestantes nas unidades básicas de saúde, educação em saúde, tratamento precoce e adequado e acompanhamento da criança após o nascimento, são medidas que irão diminuir a incidência e complicações dessa grave infecção.

1. COUTO, J. C. F.; MELO, R. N.; RODRIGUES, M. V.; LEITE, J. M. Diagnóstico pré-natal e tratamento da toxoplasmose na gestação. *Femina*, v. 31, n. 1, p. 85-90, 2003.
2. DEAN, A. G.; DEAN, J. A.; COULOMERIER, D.; BRENDL, K. A.; SMITH, D. C.; BURTON, A. H.; DICKER, R. C.; SULLIVAN, K. M.; FAGAN, R. F.; ARNER, T. G. Epi Info, Version 6: a word processing, data bases, and statistic program for epidemiology on microcomputers. Center for Diseases Control and Prevention. Atlanta. Georgia, U.S.A., 1994.
3. DUBEY, J.P. *Toxoplasma*, *Hammondia*, *Besnoitia*, *Sarcocystis* and others tissue cyst-forming coccidia of man and animals. In: KREIER, J.P. *Parasitic Protozoa*. New York; Academic Press. v. 3, p. 101, 1977.
4. FOULON, W.; NAESSENS, A.; DERDE, M. P. Evaluation of the possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. *American Journal of Perinatology*, v. 11, n. 1, p. 57-62, 1994.
5. HALL, S.; RYAN, M.; BUXTON, D. The epidemiology of toxoplasmosis infection. En: Joynson DHM. Wreghitt TG, editors. *Toxoplasmosis. Comprehensive clinical guide*. Cambridge: University Press, 2001. p.58-124.
6. HOHLFELD, P.; DAFFOS, F.; THULLIEZ, P.; AUFRANT, C.; COUVREUR, J.; MACALEESE, J.; DESCOMBEY, D.; FORESTIER, F. Fetal toxoplasmosis outcome of pregnancy and infant follow-up after in utero treatment. *Journal of Pediatrics*, v. 115, n. 5 pt 1, p.765-769, 1989.
7. MOZZATTO, L.; PROCIANOY, R. S. Incidence of congenital Toxoplasmosis in Southern Brazil: a prospective study. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 45, n. 3, p. 147-151, 2003.
8. NASCIMENTO, I.; CARVALHO, S.; CARDOZO, N.; ASFORA, S.; CAMPOS, A.; MENEZES, S.; SIMÕES, J.; SCHAEER, R. E.; ROBERTO MEYER, R. Estudo da Prevalência de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em mulheres grávidas no Estado da Bahia. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, v. 1 n. 1, p. 12-15, 2002
9. NAVARRO, I. T.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; OGAWA, L. Prevalência de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em mulheres gestantes da região do norte do Paraná. I Mostra Acadêmica de Trabalhos Científicos em Medicina Veterinária / UEL, nov, p. 44, 1998.
10. PEREZ, R. G. J.; LÓPEZ, C. A. Seroprevalência de la toxoplasmosis humana em Ceuta. *Atencion Primaria*, v. 9, p. 109-110, 1992.
11. PINARD, J. A.; LESLIE, N. S.; IRVINE, P. J. Maternal serologic screening for toxoplasmosis. *Journal of Midwifery & Woman's Health*, v. 48, n. 5, p. 308-316, 2003.
12. REICHE, E. M. V.; MORIMOTO, H. K.; FARIAS, G. N.; HISATSUGU, K. R.; GELLER, L.; GOMES, A. C. L. F.; INOUE, H. Y.; RODRIGUES, G.; MATSUO, T. Prevalência de tripanossomíase americana, sífilis, toxoplasmose, rubéola, hepatite B, hepatite C e da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, avaliada por intermédio de testes sorológicos, em gestantes atendidas no período de 1996 a 1998 no Hospital Universitário Regional Norte do Paraná (Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 33, n. 6, p. 519-527, 2000.
13. SOUZA, A. E. S.; SOUZA, D. C.; GOMEZ, J. G.; MATOS, C. S. Ocorrência de anticorpos anti-Toxoplasma em pacientes atendidos no Laboratório Celso Matos – Santarém, PA. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v. 34, n. 1, p. 51-52, 2002.
14. SPALDING, S. M.; AMENDOEIRA, M. R. R.; RIBEIRO, L. C.; SILVEIRA, C.; GARCIA, A. P.; CAMILLO, C. L. Estudo prospectivo em gestantes e seus bebês com risco de transmissão de toxoplasmose congênita em um município do Rio Grande do Sul. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, n. 4, p. 483-491, 2003.
15. SPALDING, S. M.; AMENDOEIRA, M. R. R.; KLEIN, C. H.; RIBEIRO, L. C. Triagem Sorológica e fatores de risco para Toxoplasmose em gestantes no Sul do Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 38, n. 2, p. 173-177, 2005.
14. STELLA, J. H., Rastreamento pré-natal para toxoplasmose na rede básica de saúde em Campinas– Prevalência dos diferentes perfis sorológicos e comparação da rotina vigente com uma nova proposta. 2004. Dissertação. (Mestrado ligado ao Departamento de Tocoginecologia) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Ciências Patológicas
Centro de Ciências Biológicas, Campus Universitário. Caixa Postal 6001
CEP 86051-990 Londrina - Paraná.
Fone: (43) 3371-4502, FAX (43) 3328-4267.
E-mail: rbregano@uel.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**

Análise do polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição para MspI no íntron 6 do TP53 em pacientes com câncer do colo do útero*

Analysis of the TP53 intron 6 MspI restriction fragment length polymorphism in cervical carcinoma patients*

Tatiana Medeiros Galvão^{1,3}, Thales Allyrio Araújo de Medeiros Fernandes⁴, Christiane Medeiros Bezerra³ & Rosely de Vasconcellos Meissner^{2,4}

RESUMO - Polimorfismos do gene da proteína supressora de tumor p53 (TP53) têm sido estudados como possíveis fatores de risco para o desenvolvimento de diferentes tipos de câncer. O objetivo deste estudo foi verificar se o polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição para MspI no íntron 6 do TP53 (nucleotídeo 13494) poderia influenciar no desenvolvimento do câncer do colo do útero na população do Rio Grande do Norte. Os resultados obtidos sugerem que o alelo A1 do MspI (ausência do sítio de restrição) não está associado a uma maior susceptibilidade ao câncer do colo do útero na população estudada.

PALAVRAS-CHAVE - polimorfismo do gene da p53, câncer do colo do útero, polimorfismo do sítio de restrição para MspI no intron 6 do TP53.

SUMMARY - TP53 polymorphisms have been studied as possible risk factors to development of different kinds of cancer. The purpose of this study was to verify whether intron 6 MspI restriction fragment length polymorphism (nt 13494) could be influenced cervical cancer development in a population from Rio Grande do Norte. Results suggest that MspI A1 allele (absence of restriction site) is not associated with cervical cancer susceptibility in the studied population.

KEYWORDS - p53 gene polymorphism; cervical cancer; intron 6 MspI restriction site polymorphism of TP53.

INTRODUÇÃO

O câncer de colo do útero representa a terceira neoplasia mais freqüente entre as mulheres no Brasil, sendo a quarta causa de morte por câncer nas mesmas (INCA, 2006). Apesar de diversos fatores ambientais, imunológicos e genéticos do hospedeiro serem referidos como fatores de risco para o desenvolvimento do câncer cervical, o único fator fortemente associado é a infecção persistente pelos papilomavírus humanos (HPV) do grupo de alto risco (Bosch, 2002). Os HPVs codificam oncoproteínas virais que interferem na regulação do ciclo celular do hospedeiro. Em particular, as proteínas E6 e E7 originadas dos HPVs de alto risco são capazes de inativar e promover a degradação dos produtos dos genes supressores tumorais TP53 e RB, respectivamente (zur Hausen, 2002). Assim, a inativação da proteína p53 pela oncoproteína E6 do HPV de alto risco é um dos principais eventos associados ao desenvolvimento da carcinogênese cervical (Mantovani & Banks, 1999; zur Hausen, 2002). A p53 desempenha diversas funções nos processos celulares, tais como, regulação do ciclo celular, reparo a danos no DNA, indução da apoptose e promoção da transcrição gênica (revisado em Vousden & Lu, 2002). A perda de função da p53 por mutações e/ou deleção gênicas do TP53 é uma das mais freqüentes alterações observadas em tumores humanos principalmente em tumores invasivos (Olivier *et al.*, 2002). No câncer do colo do útero, as mutações e/ou deleções do TP53 são raramente observadas, mas a p53 é degradada por ação da oncoproteína viral E6. Polimorfismo de DNA é, por convenção, a existência de mais de uma variante para um locus que podem ser encontradas na população com uma freqüência maior do que 1%. Dois seres humanos escolhidos ao acaso diferem em cerca de 3 milhões de nucleotídios. A maioria destes poli-

morfismos é neutra ou quase neutra, mas uma fração destes são funcionais e são responsáveis pelas diferenças fenotípicas observadas entre os indivíduos, inclusive na suscetibilidade a doenças (Bamshad *et al.*, 2004). Os polimorfismos funcionais presentes em genes supressores de tumor, como o TP53, podem influenciar na suscetibilidade individual ao desenvolvimento de diversos tipos de cânceres. Três polimorfismos do TP53 foram estudados em diferentes países, observando-se variações nas freqüências alélicas destes polimorfismos entre diferentes populações e etnias: a duplicação de 16 pb no íntron 3, o polimorfismo do códon 72 (nucleotídeo 12139), que poderá codificar prolina (CCC) ou arginina (CGC) e o nucleotídeo 13494 (G ou A) no íntron 6, gerando um sítio de restrição para a enzima MspI ou não (Själänder *et al.*, 1995a e 1996; Gaspar *et al.*, 2001; Mitra *et al.*, 2005). Estes polimorfismos também têm sido estudados como fatores de risco para o desenvolvimento de diferentes tipos de câncer com resultados contraditórios (Wu *et al.*, 2002; Själänder *et al.*, 1995b).

Estudos sugerem que as variantes alélicas dos polimorfismos da duplicação de 16pb no íntron 3 e do nucleotídeo 13494 no íntron 6 são funcionalmente diferentes embora localizados em regiões intrônicas. Wu *et al.* (2002) observaram uma capacidade reduzida de reparo do DNA e de apoptose em estudos *in vitro* com linhagens de células que possuíam o alelo com a duplicação de 16 pb no íntron 3 e/ou para o polimorfismo do sítio de restrição da enzima MspI no íntron 6 no TP53. Quando ambos as variantes do TP53 estavam presentes na mesma célula, estas funções decaíam ainda mais.

A influência do polimorfismo para o sítio de restrição da enzima MspI no íntron 6 do TP53 no câncer do colo do útero foi investigado, até o momento, apenas por Mitra *et al.* (2005) em pacientes da Índia, onde não foram observadas

Recebido em 25/09/2006

Aprovado em 24/05/2007

*Laboratório de Biologia Molecular de Doenças Infecciosas e do Câncer;

Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Biociências, UFRN, Natal, RN, Brasil.

¹Bolsista de iniciação científica CNPq-PIBIC; ²Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Biociências, UFRN, Natal, RN, Brasil; ³Alunas do Curso de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, UFRN, Natal, RN, Brasil; ⁴Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, UFRN, Natal, RN, Brasil.

diferenças significativas na distribuição deste polimorfismo entre os grupos com câncer e saudável.

O objetivo deste trabalho foi estudar a influência do polimorfismo do sítio de restrição *MspI* no íntron 6 do *TP53* no desenvolvimento do câncer do colo do útero em pacientes do Rio Grande do Norte.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi analisado um total de 100 amostras de sangue periférico de doadoras voluntárias saudáveis da população do Rio Grande do Norte e 78 amostras de tumor do colo do útero de pacientes submetidas a conização ou histerectomia no hospital Dr. Luiz Antônio, Natal-RN. As mulheres foram classificadas em euro-descendentes quando apresentavam apenas ascendentes de origem européia e afro-miscigenadas quando tinham ascendentes africanos (um ou ambos os pais, avós ou bisavós). Este estudo é parte do projeto "Estudo do gene da p53 em amostras de câncer do colo do útero do estado do Rio Grande do Norte", aprovado pelo "Comitê de Ética em Pesquisa da UFRN".

O DNA das amostras de sangue periférico foi extraído conforme Salazar *et al.* (1998). Para a genotipagem, as amostras foram submetidas a uma reação de polimerase em cadeia (PCR) utilizando-se os iniciadores C (5' TATGAGCCGCCTGAGGTCTGG 3') e D (5' TACAGGCATGAGCCACTGCGC 3'), conforme Sjölander *et al.* (1995a), que permitem amplificar um fragmento de 240 pb contendo o sítio polimórfico para a enzima *MspI*. As seguintes condições foram seguidas para a realização da PCR: 2,5 µL da suspensão de DNA genômico foram adicionados em um volume final de 25 µL, contendo: 0,5 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen, Brasil), 10 mM Tris HCl, pH 8,0, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,1 mM dNTP, 0,25 µM de cada iniciador (C e D). Foram realizados 35 ciclos de PCR onde a temperatura de anelamento diminuiu de 71°C até 67°C (0,5°C por ciclo), precedidas por um passo de desnaturação inicial a 94°C/5min e seguidas de um passo de extensão final a 72°C/5 min. oito µL do produto da reação de PCR foram, então, submetidos à digestão com 15 U da enzima de restrição *MspI* durante a noite a 37°C. Os produtos da digestão enzimática foram submetidos a uma eletroforese em gel de poliácridamida 8% em tampão TBE (Sambrook *et al.*, 1992) e posteriormente corados pela prata segundo Sanguinetti *et al.* (1994).

A análise estatística foi realizada através do teste do χ^2 de Pearson e do teste exato de Fisher (quando o número de indivíduos esperados para uma determinada classe era inferior a 5), utilizando-se o programa PEPI (Gahlinger & Abramson, 1995). Foram considerados estatisticamente significantes os valores de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

As frequências genotípicas e alélicas para o polimorfismo estudado do *TP53* nas amostras de pacientes com câncer do colo do útero e grupo de mulheres saudáveis, de acordo com a etnia, são apresentadas na Tabela-1. Em todos os grupos, as frequências genotípicas obtidas estão de acordo com o esperado para o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Exemplos dos resultados obtidos após PCR, digestão e eletroforese são mostrados na Figura 1.

Para o grupo de mulheres saudáveis, não foram observadas diferenças estatísticas nas frequências alélicas e genotípicas entre as etnias (Tabela-1). Apesar das diferenças significativas observadas nas frequências alélicas e genotí-

picas entre os dois grupos étnicos no grupo das pacientes com câncer, não foram observadas diferenças nas frequências alélicas quando compararam-se cada grupo étnico das pacientes com câncer com o respectivo grupo étnico de mulheres saudáveis (p de Fisher=0,636 para euro-descendentes e 0,081 para afro-miscigenadas).

Também, não foram observadas diferenças significativas entre as frequências genotípicas das afro-miscigenadas ou euro-descendentes, em relação aos respectivos grupos étnicos do grupo de mulheres saudáveis (p de Fisher=0,196 e 0,926, respectivamente).

DISCUSSÃO

Neste estudo analisou-se a influência do polimorfismo do sítio de restrição para a enzima *MspI* no íntron 6 do *TP53* no câncer do colo do útero. Os resultados obtidos sugerem que o alelo A1 (ausência do sítio de restrição) não está associado a uma maior suscetibilidade ao câncer do colo do útero e que as diferenças observadas no grupo com câncer sejam devido ao tamanho da amostra analisada. Outro fator que pode ter influenciado nos resultados é a dificuldade de classificação étnica adequada devido à miscigenação da população, já que são relatadas diferenças nas frequências alélicas deste polimorfismo entre etnias. Estudos adicionais com amostras maiores em diferentes populações e analisando em conjunto com outros polimorfismos funcionais presentes no gene *TP53* poderão ajudar a esclarecer esta questão.

TABELA I

Frequências genotípicas e alélicas para os polimorfismos do gene *TP53* estudados nas amostras de pacientes com câncer do colo do útero e controle de acordo com a etnia.

	Etnia	N	Genótipo(%)			Freq A ₁	P(Gn/A I)	H-W
			A ₁ A ₁	A ₁ A ₂	A ₂ A ₂			
Câncer**	Euro-descendentes	28	7,1	25,0	67,9	0,196		0,822
	Afro-miscigenadas	50	0,0	10,0	90,0	0,050	0,017*/0,005*	1,000
	Total	78	2,6	15,4	82,0	0,103		0,872
Saudável	Euro-descendentes	54	5,5	22,2	72,3	0,166		0,780
	Afro-miscigenadas	46	2,2	19,6	78,2	0,119	0,687/0,346	1,000
	Total	100	4,0	21,0	75,0	0,145		0,7850

N= Número de indivíduos; P (Gn:A1) = Significância das diferenças nas frequências genotípicas (Gn) (teste exato de Fisher) e alélicas (A1) (X²); H-W (P) = Significância das diferenças entre as frequências genotípicas observadas e as esperadas, segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg (teste exato de Fisher); A1=ausência do sítio de restrição* Estatisticamente significante**

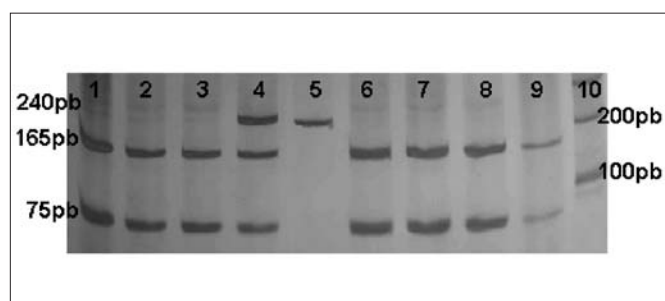


Figura-1. Gel de poliácridamida corado pela prata mostrando os três genótipos possíveis para o polimorfismo do sítio de restrição para a enzima *MspI*. Amostra 5, homocigoto para a ausência do sítio de restrição *MspI*. Amostra 4, Heterocigoto para o sítio de restrição *MspI*. Amostras de 1-3 e 6-9, homocigotos para a presença do sítio de restrição *MspI*

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a FUNDECI- Banco do Nordeste, CAPES e PIBIC-CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- BAMSHAD, M., WOODING, S., SALISBURY, B.G., STEPHENS J C. Deconstructing the relationship between genetics and race. *Nature Reviews*, v.5, p.598-608, 2004.
- BOSCH, F. X., LORINCZ, A., MUÑOZ, N., MEIJER, C. J. L. M., SHAH, K. V. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J. Clin. Pathol.*, v.55, p. 244-265, 2002.
- GAHLINGER, P.M., & ABRAMSON, J.H. Computer programs for epidemiologic analysis: PEPI (Stone Mountain: USD), 1995.
- GASPAR, P. A.; HUTZ, M. A, SALZANO, F.M; AND WEINER, T. A. TP53 polymorphism and haplotypes in south american and neo-brasilians. *Annals Of Human Biology*, v. 28, p. 184-194, 2001.
- GUIMARAES, D.P. & HAINAUT, P. TP53: a key gene in human cancer. *Biochimie.*, v.84, p.83-93, 2002.
- MANTOVANI, F. & BANKS, L.. Inhibition of E6 mediated degradation of p53 is not sufficient for stabilisation of p53 protein in cervical tumour derived cell lines. *Oncogene*, v.18, p.3309-3315, 1999.
- MITRA, S., MISRA, C., SINGH, R.K., PANDA, C.K., ROYCHOUDHURY, S. Association of specific genotype and haplotype of p53 gene with cervical cancer in India. *J Clin Pathol*, v. 58, p.26-31, 2005.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE / INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA) (2006). Estimativa 2006 Incidência de Câncer no Brasil. Disponível em <http://www.inca.gov.br/estimativa/2006/>. Acesso em 04 de março de 2006.
- OLIVIER, M., EELES, R., HOLLSTEIN, M., KHAN, M.A., HARRIS, C.C. & HAINAUT, P. The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users. *Hum Mutat*, v. 19, p.607-614, 2002.
- SALAZAR LA, HIRATA MH, CAVALLI SA, MACHADO MO, HIRATA RD. Optimized procedure for DNA isolation from fresh and cryopreserved clotted human blood useful in clinical molecular testing. *Clin Chem.*, v.44, p.1748-50, 1998.
- SAMBROOK J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. *Molecular cloning: a laboratory manual*, 2. ed., New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1992.

- SANGUINETTI, C.J., DIAS NETO, E., SIMPSON, A.J.G. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *Biotechniques*, v.17, p.915-919, 1994.
- SCHOELL, W.M.J., JANICEC, M.F., MIRHASHEMI, R. Epidemiology and Biology of Cervical Cancer. *Semin. Surg. Onc.*, v.16, p. 203-211, 1999.
- SJÄLANDER, A., BIRGANDER, R., KIVELÄ, A., BECKMAN, G. p53 polymorphisms and haplotypes in different ethnic groups. *Hum. Hered.*, v. 45, p.144-149, 1995(a).
- SJÄLANDER, A., BIRGANDER, R., ATHLIN, L., STENLING, R., RUTEGARD, J., BECKMAN, L., BECKMAN, G. P53 germ line haplotypes associated with increased risk for colorectal cancer. *Carcinogenesis.*, v.7, p.1461-1464, 1995(b).
- SJÄLANDER, A., BIRGANDER, R., SAHA, N., BECKMAN, L., BECKMAN, G. p53 polymorphisms and haplotypes show distinct differences between major ethnic groups. *Hum. Hered.*, v.46, p.41-48, 1996.
- VOUSDEN, K. H. & LU, X. Live or let die: the cell's response to p53. *Nat. Rev. Cancer*, v.2, n.8, p.594-604, 2002.
- WANG-GOHRKE, S. WEIKEL, W., RISCH, H., VESPERINE, D., ABRAHAMSON, J., LERMAN, C., GODWIN, A., MOSLEHI, H., OLIPADE, O., BRUNET, J.S., STICKELER, E., KIEBACK, D.G., KREIENBERG, R., WEBER, B., NAROD, S.A. & RUNNEBAUM, I.B. Intron variance of the p53 gene are associated with an increased risk for ovarian cancer but not in carriers of BRCA1 or BRCA2 germline mutations. *Br. J. Cancer*, v. 81, p.179-183, 1999.
- WU, X., ZHAO, H., AMOS, C. L., SHETE, S., MAKAN, N., HONG, W. K., KADLUBAR, F. F., SPITZ, M. R. P53 genotypes and haplotypes associated with lung cancer susceptibility and ethnicity. *J. Natl. Cancer Inst.*, v. 94, p. 681-690, 2002.
- zur HAUSEN, H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat. Rev. Cancer*, v.2, p.342-350, 2002.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Rosely de Vasconcellos Meissner
Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Biociências
Av. Salgado Filho, S/N, Campus Universitário, Lagoa Nova
CEP:59072-970 Natal - RN - Brazil
Fax +55-84-32119210
E-mail: rosevm@ufrnet.br

IFCC WorldLab 2008

20th International Congress of Clinical Chemistry
35^o Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
8^o Congresso Brasileiro de Citologia Clínica



28 de setembro a 02 de outubro 2008
Fortaleza - CE - Brasil



Sociedade
Brasileira de
Análises
Clínicas

A SBAC facilita para você ir ao
maior congresso mundial de
Análises Clínicas.

Promoção de Aniversário
Inscrições a R\$ 400,00 até 31 de março.
Corra e aproveite!

Maiores informações:
21 2187-0800 - geral@sbac.org.br - www.sbac.org.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

Detecção do genoma de HPV em pacientes com carcinoma espinho-celular da laringe: Comparação entre os ensaios de PCR convencional e em tempo real

Detection of HPV genome in patients with squamous cell carcinoma of the larynx: Comparison between conventional and real time PCR assays

Cunha DMC¹; Silva AMTC²; Curado MP³; da Silva CC⁴ & da Cruz AD⁵

RESUMO - A interação do genoma do HPV com o genoma da célula hospedeira ou de proteínas virais com proteínas celulares necessárias ao controle do ciclo celular desencadeia a morte celular ou age como fator de iniciação e progressão de processos malignos. Diversos trabalhos têm sido desenvolvidos no sentido de associar a infecção de HPV aos cânceres de cabeça e pescoço. O objetivo do presente estudo foi comparar a detecção do genoma de HPV em pacientes com CEC da laringe, considerando os ensaios de PCR convencional e em tempo real. O grupo amostral foi constituído de 15 pacientes do Registro de Câncer de Base Populacional da ACCG. Das peças cirúrgicas, foi obtido DNA total, usado na investigação molecular, para detecção do genoma de HPV, utilizando os *primers* genéricos GP05/06, que detectam todos os tipos de HPV. O genoma de HPV foi amplificado em 30% dos casos por PCR convencional e no ensaio de PCR em tempo real apresentaram amplificação em 46,7% das amostras, evidenciando uma diferença em 40%. Os estudos de associação entre o HPV e os cânceres da laringe são importantes no sentido de ampliar o conhecimento acerca dos mecanismos de infecção, iniciação e promoção tumoral potencializada por estes vírus.

PALAVRAS-CHAVE - HPV, PCR e PCR em tempo real

SUMMARY - The random integration of HPV DNA into the cell genome causes the interaction of viral proteins with cell cycling proteins, which will eventually lead to apoptosis or to initiation or progressions of carcinomas. Several studies have been designed to investigate the potential association of HPV infection and tumorigenesis of the head and neck. The objective of the current study was to compare the sensitivity of detection of HPV DNA using total DNA of SCC of the larynx through classical and real-time PCR assays. The study group was comprised of 15 patients who agreed to voluntarily participate in this study. Total DNA was extracted from tumor tissue samples and PCR was carried out using GP05/06 primer set. HPV genome detection was observed in 30% (5/15) and 46.7% (7/15) of samples amplified with classical and real-time PCR, respectively. The results of this study indicated that real-time PCR is 40% more sensitive to detect HPV genome in total human DNA than classical PCR assay. Thus, real-time PCR strategy is a powerful tool to detect HPV genome integrated into host cells and, consequently, could be used to further our knowledge regarding the role of HPV infection on laryngeal carcinomas.

KEYWORDS - HPV, PCR and Real Time PCR

INTRODUÇÃO

Os HPVs são pertencentes à família Papillomaviridae, gênero Papilomavírus (Santos *et al.*, 2002). São vírus não-envelopados, simétricos, apresentando 72 capsômeros e um genoma de DNA de fita dupla circular, medindo aproximadamente 8000pb (Souto *et al.*, 2005). A infecção viral promove modificações bioquímicas e moleculares em seus hospedeiros, necessárias para o desenvolvimento e reprodução viral, alterando significativamente a população dos hospedeiros ou a população de células por eles parasitadas, através da interação do genoma viral com o genoma da célula hospedeira ou de proteínas virais com proteínas celulares necessárias ao controle do ciclo celular, como as proteínas supressoras de tumor pRb e p53, desencadeando a morte celular ou agindo como um fator de iniciação e progressão de processos malignos (Silva *et al.*, 2003). Alguns tipos de papilomavírus humano (HPV), nos últimos anos, têm sido responsabilizados pelo desenvolvimento de malignidade nas regiões que comumente infectam, compreendendo, na mulher, o períneo, vulva, vagina, colo do útero e região anal (Einstein & Goldberg, 2002) e, no ho-

mem, pênis, uretra, saco escrotal e região anal (Almadori *et al.*, 2002). Além da região geniturinária, o HPV também pode ser encontrado nas células epiteliais das vias aéreas superiores e o seu papel na oncogênese dos tumores da cabeça e pescoço tem sido freqüentemente investigado (Einstein & Goldberg, 2002). Neste sentido, diversos autores evidenciam uma correlação positiva do parasitismo provocado pelo HPV com tumores benignos como papilomas, verrugas comuns e condilomas (Garcia-Garrancá & Garriglio, 1993) e malignos, sobretudo nas células da região cervical (Bibbo & Filho, 1998). Lin e colaboradores (1998) realizaram estudos de tipagem de HPVs associando alguns tipos virais com cânceres de cabeça e pescoço. A carcinogênese é um processo de múltiplas etapas que envolvem mudanças genéticas e epigenéticas, culminando na ativação de proto-oncogenes e/ou inativação dos genes supressores de tumor, que modifica o fenótipo celular. Uma célula maligna se difere de uma célula normal principalmente pela sua independência no controle do ciclo celular. O HPV pode transformar e imortalizar as células hospedeiras, iniciando assim um processo maligno. Os produtos dos genes *E6* e *E7* são importantes para a transformação e

Recebido em 28/08/2006

Aprovado em 21/09/2007

¹Pós-Graduada do Programa de Pós-Graduação Lato Senso em Genética / Núcleo de Pesquisas Replicon / Universidade Católica de Goiás / Goiânia - GO; ²Biomédico Geneticista, Pesquisador do Núcleo de Pesquisas Replicon / Professor de Biologia Molecular do Departamento de Biologia / Universidade Católica de Goiás / Goiânia - GO; ³Médica do Hospital Araújo Jorge / Registro de Câncer de Base Populacional / Associação de Combate ao Câncer em Goiás / SuLeide - Superintendência Leide das Neves Ferreira / Secretaria de Estado da Saúde Goiânia - GO; ⁴Biomédico Geneticista do LaGene - Laboratório de Citogenética e Genética Humana / SuLeide - Superintendência Leide das Neves Ferreira / Secretaria de Estado da Saúde, Professor de Genética do Departamento de Biologia e Pesquisador do Núcleo de Pesquisas Replicon / Universidade Católica de Goiás / Goiânia - GO; ⁵Biomédico Geneticista do LaGene - Laboratório de Citogenética e Genética Humana / SuLeide - Superintendência Leide das Neves Ferreira / Secretaria de Estado da Saúde, Professor de Biologia Molecular do Departamento de Biologia, Pesquisador do Núcleo de Pesquisas Replicon / Universidade Católica de Goiás e Pesquisador do Hospital Araújo Jorge / Registro de Câncer de Base Populacional / Associação de Combate ao Câncer em Goiás / Goiânia - GO

imortalização celular. A proteína E6 tem uma grande afinidade pelo DNA e é encontrada tanto no núcleo como na membrana plasmática. A proteína E7 é uma fosfoproteína encontrada no citoplasma e, provavelmente, no núcleo (Garcia-Carrancá & Gariglio, 1993). Os produtos dos genes supressores de tumores presentes nas células como as proteínas pRb e p53 são alvo da ação dos produtos dos genes dos virais. Em geral, a atividade da proteína pRb é inibida pela proteína viral E7, enquanto que, a proteína p53 é degradada subsequente à ligação com a proteína E6. A perda das funções de ambas as proteínas celulares responsáveis pela supressão tumoral contribui para a progressão de tumores (Vousden, 1993).

O gene *RB1* é um supressor de tumor (GST) localizado no braço longo do cromossomo 13 (13q14), que tem como produto a proteína celular pRb, de aproximadamente 105 kDa. A proteína pRb tem a função de inibir a progressão do ciclo celular, pois é capaz de seqüestrar o fator de transcrição E2F e impedi-lo de promover a transcrição de genes necessários para a replicação do DNA na fase S. A associação da proteína pRb com a proteína viral E7 causará uma perturbação no controle normal do ciclo celular, resultando em um estímulo positivo para a proliferação das células infectadas (Sandal, 2002).

O gene *p53* é também considerado como GST, está localizado no braço curto do cromossomo 17 (17p13), cujo produto é a proteína p53. Esse gene apresenta 11 éxons, entre os quais o primeiro deles não é codificante. A proteína p53 é constituída de 393 aminoácidos na sua extensão, apresentando quatro regiões com funções distintas, chamadas domínios da proteína. Uma vez ativada a proteína p53 é capaz de reprimir a progressão celular e sinaliza para a apoptose. A proteína p53 uma vez ativada por fosforilação ou acetilação da extremidade C-terminal passa a se ligar de maneira específica ao DNA, agindo como um fator de transcrição através da ligação em seqüências específicas, promovendo a transativação *downstream* de genes alvos. Para desempenhar tal função as proteínas p53 se associam entre si formando tetrâmeros, que são complexos protéicos resultantes da associação de quatro monômeros. Após o evento de tetramerização a proteína passa a ser capaz de impedir a proliferação celular ou induzir a morte da célula por apoptose. Nesse sentido, a proteína p53 é responsável por monitorar danos ocorridos nas moléculas de DNA. Desta forma, o ciclo celular é impedido de prosseguir até que o dano no DNA seja restaurado.

A proteína E6 do papiloma vírus humano de alto risco oncogênico se associa a proteína p53, que é responsável pela regulação da passagem da fase G1 para S e da fase G2 para M, no ciclo celular. A proteína E6 recruta a proteína celular E6AP, que funciona como uma ubiquitina-ligase para o complexo tetramérico contendo p53. Este recrutamento resulta na ubiquitinação de p53 seguido de sua rápida degradação (Stubenrauch & Laimins, 1999). Sem a proteína p53 a célula perde a capacidade de perceber e reparar possíveis danos no DNA, assim, a divisão celular passa a ocorrer sem reparo. Conseqüentemente, aumenta-se a frequência das mutações, dos rearranjos cromossômicos, das aneuploidias. O acúmulo de eventos mutacionais é a causa subjacente ao desenvolvimento de um fenótipo neoplásico e, assim, provavelmente, resultam no câncer (Vogel & Motulsky, 2000; Griffiths *et al.*, 1998; Vousden, 1993).

O objetivo deste estudo foi comparar a eficiência da detecção do genoma de HPV pela reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional com a PCR em tempo real, em biopsia de laringe de pacientes com carcinoma espino-celular (CEC).

GRUPO AMOSTRAL

O grupo amostral foi constituído de 15 pacientes recém diagnosticados com carcinoma da laringe. Os casos foram obtidos do Registro de Câncer de Base Populacional de Goiânia/GO da Associação de Combate ao Câncer em Goiás. Todos os pacientes considerados foram diagnosticados como carcinomas da laringe (CID-O: C32). A participação foi de caráter voluntário e no ato da coleta da amostra, os pacientes foram submetidos a uma entrevista e preencheram um questionário sobre hábitos de vida para determinar possíveis associações entre hábitos e os carcinomas laríngeos. As amostras biológicas dos tumores foram separadas na ocasião de realização de biópsias e/ou cirurgias. Após a retirada cirúrgica, as biópsias foram transportadas em câmara fria, com temperatura média de 10°C, armazenadas sem conservantes e fixadores em criotubos e acondicionadas a -20°C até o momento do uso.

EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DO DNA

Para a extração de DNA, 10-20mg de cada biópsia foram maceradas previamente em nitrogênio líquido. Posteriormente, o tecido macerado foi submetido à extração do DNA com o kit de purificação do DNA genômico Wizard® (*Promega Corporation, EUA*), seguindo-se as instruções do fabricante.

PCR CONVENCIONAL

Todas as amostras foram submetidas a uma primeira PCR com os *primers* genéricos GP05/06 para detecção do genoma de qualquer HPV. Em seguida, fez-se uma segunda PCR com os mesmos *primers*, utilizando o produto da PCR anterior. Assim, as amostras só foram consideradas negativas para o HPV após serem submetidas a duas PCRs, com posterior repetição das reações para confirmação do resultado. Um conjunto de *primers*, que amplifica a região D8S135 de 8p11, foi utilizado como controle interno da reação. A seqüência de todos os *primers* e o tamanho esperado dos fragmentos amplificados encontram-se na Tabela 1.

O protocolo de termociclagem para a amplificação do genoma de HPV está descrito na Tabela 2.

ANÁLISE DOS FRAGMENTOS DE PCR

Para a análise dos produtos de PCR, o DNA foi submetido à eletroforese em campo elétrico constante de 8V/cm em gel de poli-acrilamida 6% em TBE 1x. Para a visualização do DNA amplificado, o gel foi corado em banho de solução de brometo de etídio (5µg/mL) e as imagens foram capturadas e reveladas pelo sistema de vídeo documentação *ImageMasterVDS*® (*Amersham Pharmacia Biotech, EUA*).

PCR EM TEMPO REAL

As reações de PCR em tempo real foram realizadas no aparelho Rotor-Gene® (Corbett Research, Austrália) que mostrou resultados similares quando repetidos. Para cada teste, foram utilizados 0,5µL de DNA, 12,5µL SYBR Green PCR Master Mix® (Invitrogen, USA), 1,0µL de cada um dos *primers* conforme indicado na Tabela 1 e 10,0µL de água para completar o volume final de 25,0µL. As condições de amplificação foram as mesmas conforme indicadas na Tabela 3.

TABELA I
Seqüências consenso dos primers utilizados e o tamanho esperado do fragmento amplificado.

Tipos	S*	Seqüências 5' → 3'	Fragmento (pb)
D8S135	F	GGG AGG CTT TAT AAT TA T TTA GC	100
	R	CTG GGC AAC AGA GT G GGA C	
GP05	F	TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC	170
GP06	R	GAA AA A TAA ACT GTA AAT CAT ATT C	

*S: Sentido – F: Forward (Direto) e R: Reverse (Reverso).

TABELA II
Protocolo da termociclagem para o ensaio de PCR convencional para a amplificação do genoma de HPV a partir de DNA total extraído das células de CEC da laringe.

Passos		Temperatura (°C)	Tempo (min)
Desnaturação inicial		95	5
Ciclos (10)	Desnaturação	95	1
	Anelamento	57	1
	Extensão	72	1
Ciclos (30)	Desnaturação	95	1
	Anelamento	50	1
	Extensão	72	1
Extensão final		72	5
Conservação		4	∞

TABELA III
Protocolo da termociclagem para o ensaio de PCR em tempo real para a amplificação do genoma de HPV a partir de DNA total extraído das células de CEC da laringe.

Passos		Temperatura (°C)	Tempo (min)
Desnaturação inicial		95	10
Ciclos (40)	Desnaturação	94	1
	Anelamento	40	1
	Extensão	72	1
Conservação		4	∞

TABELA IV
Resultados da amplificação das amostras de DNA extraído de pacientes com CEC da laringe.

Código Paciente	Primers		
	D8S135	GP05/GP06	
		PCR convencional	PCR em tempo real
085-209	+		
085-213	+		+
085-261	+		
085-417	+	+	+
085-429	+		
085-438	+	+	+
085-434	+		
085-476	+		+
085-491	+		
085-597	+		
085-600	+		
085-657	+	+	+
085-659	+	+	+
085-660	+		
085-743	+	+	+
085-200	+		
085-200	+		
Tota I (%)		30 (5/15)	46,7 (7/15)

+: Amplificação

RESULTADOS

Foram observadas a amplificação de DNA humano (D8S135) em todas as reações. Na PCR convencional, os primers GP05/GP06 foram amplificados em 30% dos casos (5/15), evidenciando a presença do genoma de HPV nas células de CEC da laringe. Quando estes mesmos primers foram utilizados no ensaio de PCR em tempo real, apresentaram amplificação em 46,7% (7/15) das amostras, evidenciando uma diferença em 40% dos casos. A Tabela 4 apresenta os resultados observados neste estudo.

DISCUSSÃO

Estudos recentes demonstram que a utilização da reação em cadeia da polimerase em tempo real com primers consenso é mais eficiente para identificar o genoma de HPV quando comparada com o ensaio de PCR convencional. O ensaio PCR em tempo real tem sido muito utilizado em avaliação retrospectiva, na tentativa de detectar a presença de genomas virais. Adicionalmente, PCR em tempo real é uma ferramenta muito útil na quantificação da carga viral e da genotipagem de HPV, assim como de outros tipos virais. O aumento na frequência de detecção da presença do genoma viral nas amostras de pacientes com CEC na laringe por PCR em tempo real sugere que devemos ter uma atenção especial nos resultados obtidos pelo método convencional. Durante anos o ensaio utilizando PCR convencional vem sendo largamente utilizado nos laboratórios para diagnóstico em diversas rotinas laboratoriais. Apesar de ser confiável, os ensaios que utilizam PCR convencional podem não ser completamente satisfatórios. Por outro lado, os testes utilizando novas metodologias devem ser inseridos na rotina laboratorial de maneira consciente e fundamentados. É necessário aumentar investimentos em infraestrutura e na aquisição de novos equipamentos, treinamento pessoal e compreensão pelos clínicos da utilização de novas metodologias.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos aos membros do Hospital Araújo Jorge/ Registro de Câncer de Base Populacional/ Associação de Combate ao Câncer de Goiás, do do LaGene/SES e do NPR/UCG pelo extenso apoio para com todos os pesquisadores associados.

REFERÊNCIAS

1. ALMADORI G., GALLI J., CADONI. Et al. Human papillomavirus infection and cyclin D1 gene amplification in laryngeal squamous cell carcinoma: biologic function and clinical significance. *Head and Neck*. 24 (6), p.597-604, jun. 2002.
2. BIBBO, M. & SILVA FILHO, A.M. Lesões relacionadas à infecção por HPV no trato anogenital. In Villa, L.L. (Eds). Aspectos moleculares da oncogênese por papilomavírus. Revinter, 1998, p.51-58.
3. EINSTEIN, M.H.; GOLDBERG, G>L> Human Papillomavirus and cervical neoplasia. *Cancer Invest*, 20 (7-8), p.1080-5, 2002
4. HA CUBIE, ALSEAGAR, Et al. Rapid real time PCR to distinguish between high risk human papillomavirus types 16 and 18. *Clin Pathol: Mol Pathol* 2001;54:24-29.
5. MARTIN MORBERG< INGER GUSTAVSSON, AND ULF GYLLENSTEN. Real-Time PCR-Based System For Simultaneous Quantification Of Human Papillomavirus Types Associated With High Risk Of Cervical Cancer *Journal of clinical Microbiology*, July 2003, p. 3221-3228.
6. MCKAIG, R>G.; BARIC, R>S.; OLSHAN, A>F> Human papillomavirus and head and neck cancer: epidemiology and molecular biology. *Head and Neck*, 20 (3), p 250-65, maio 1998.
7. SANTOS, O.S.N.; ROMANOS, V.T.M.; WIGG, D.M. Introdução à virologia humana. In: ROMANOS, M.T.V.; SSANTOS, N.S.O.; MIRANDA, M.M.F.S. (Eds). *Virose oncogênicas*. Guanabara Koogan, 2002. p. 204
8. SOUTO, R, FALHARI,J.P.B.; DA CRUZ, A.D.; O Papilomavírus Humano: Um Fator Relacionado Com a formação de Neoplasias. *Revista Brasileira de Cancerologia*,2005; 51 (2): 155-160

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Núcleo de Pesquisas Replicon
Departamento de Biologia
Universidade Católica de Goiás
Rua 235, 40 Bloco 4L – Área IV - Setor Universitário
CEP 74605-010 Goiânia - GO
Fomento: PROPE – Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa / UCG

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

Análise da prática e atitude sobre o exame preventivo de câncer de colo de útero em uma comunidade universitária*

Analyses of practice and behaviors about the pap smear of feminine university population

Deisimara Racho¹ & Vera Regina Andrade Vargas²

RESUMO - O câncer de colo de útero é a segunda causa de câncer em mulheres no mundo. O exame de Papanicolaou é o método de detecção aplicado em programas de rastreamento, e tem contribuído para diminuir as taxas de incidência e mortalidade por este tipo de câncer. No entanto, existem alguns problemas nos programas que envolvem a equipe de saúde e as atitudes e práticas das mulheres. O objetivo deste estudo foi avaliar a adequação das atitudes e práticas de mulheres sobre o exame preventivo de câncer de colo de útero. A amostra foi composta por 272 mulheres que eram professoras, alunas e funcionárias, maiores de 18 anos que frequentavam uma universidade regional e que concordaram em participar do estudo. Os dados foram coletados por meio de um questionário anônimo individual. Foi observado que a maioria tinha idade de 20-29 anos, 12-16 anos de escolaridade, era solteira e não tinha filhos. 15,80% tinham idades de 18 e 19 anos, sendo que destas, a maioria mostrou práticas e atitudes inadequadas. As mulheres com mais de 16 anos de escolaridade mostraram atitudes e práticas mais adequadas. As mulheres casadas mostraram melhor adequação nas atitudes e práticas. As mulheres com 1-3 filhos tiveram atitudes e práticas adequadas. A maioria já realizou o exame, com período de 1-3 anos, mostrando adequação nas práticas. Entre os motivos para a realização do exame, a procura espontânea foi de 45,58%, consideradas com atitude adequada. A maioria das mulheres teve atitude adequada em relação ao conhecimento de seus resultados.

PALAVRAS-CHAVE - Atitudes e práticas; Papanicolaou; câncer cervical.

SUMMARY - The cervical cancer is the second causes as of cancer in women of the world. Pap smear is the method of cervical cancer screening program, and had contribute for decrease the incidence and mortality for this cancer. However, there were that problems in this program were involved the health staff and the attitudes and practices of women. The objective of this study was evaluated the adequacy of the attitudes and practices of women about Pap smear. The sample was composed for 272 women that were teacher, student and servant, of 18 years or more from one regional university and that consent into participate of study. The data have been colleted by of um questionnaire anonym individual. Was observed than the most had age of 20-29 years old, 12-16 years old as of study, was single and didn't have sons. 15,80% of women had ages of 18 and 19 years old and showed inadequate practices and attitudes. The women with 16 years old or more of study showed adequate attitudes and practices. The women married showed the best adequacy attitudes and practices. The women with 1-3 sons had adequate attitudes and practices. Most already realize Pap smear, along period of 1-3 years, exhibiting adequacy at the practices. Among the causes for the accomplishment the Pap smear, the demand spontaneous was of 45, 58%, considered adequate attitude. The major of women had adequate attitude to relation of the knowledge from their results.

KEYWORDS - Practice and attitudes; Pap smear; cervical cancer.

INTRODUÇÃO

O câncer de colo de útero é o segundo câncer mais frequente em mulheres no mundo. No Brasil, estima-se que o câncer de colo do útero seja a terceira neoplasia maligna mais comum entre as mulheres, sendo superado pelo câncer de pele (não-melanoma) e pelo câncer de mama, e que seja a quarta causa de morte por câncer em mulheres. Para o ano de 2006, as estimativas da incidência de câncer, no Brasil, apontaram a ocorrência de 19.260 novos casos de câncer de colo de útero (CESAR *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2003; ZONTA *et al.*, 2005; SILVEIRA *et al.*, 2005; BRASIL, 2006a; BRASIL, 2006b).

Uma das principais razões que evidenciam esse panorama, no Brasil, é resultado de muitos anos em que a realização do exame preventivo ginecológico ocorreu fora de um programa estruturado, que estimulasse a procura regular do exame e garantisse acesso e tratamento dos casos positivos (MENDES *et al.*, 2004).

Conforme consta em alguns estudos sobre o acesso e utilização do exame de Papanicolaou, os esforços crescentes na tentativa de melhorar a eficiência dos programas de prevenção de câncer de colo de útero não diminuíram as taxas de incidência e mortalidade por este tipo de câncer, reve-

lando que essas medidas não são suficientes para a efetividade dos programas. A redução desses índices depende de um conjunto de ações que envolvam principalmente a equipe de saúde e as mulheres. Além disto, outros fatores, tais como a frequência, a qualidade da coleta, a análise diagnóstica e um bom sistema de acompanhamento das pacientes é muito importante (SILVA *et al.*, 2002; PINHO *et al.*, 2003; BRASIL, 2006a).

A realização do exame de Papanicolaou depende da educação e de um conjunto de características individuais das mulheres, tais como: a idade, o estado civil, a escolaridade, a renda mensal, o número de gestações, o uso de métodos contraceptivos, a auto-percepção da severidade e susceptibilidade à doença (PINHO e FRANÇA-JUNIOR, 2003).

Com relação à educação das mulheres, essa deve ser voltada para a conscientização de que não é necessário esperar por sinais da doença para procurar o serviço de saúde e realizar o exame de Papanicolaou, pois essa doença inicia-se silenciosamente e sem sintomas definidos. Embora, muitas das lesões precursoras do câncer de colo uterino desapareçam, mesmo sem tratamento, uma significante parcela evolui para carcinoma invasor (BRENNAN *et al.*, 2001; HAAS *et al.*, 2003).

Recebido em 06/07/2006

Aprovado em 20/09/2007

Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Santo Ângelo, Departamento de Ciências da Saúde, Curso de Farmácia Bioquímica Clínica. ¹Aluna do Curso de Farmácia Bioquímica Clínica; ²Mestre em Gerontologia Biomédica; Pós-Graduada em Citologia Clínica, Professora de Citologia Clínica de Curso de Farmácia.

Segundo alguns autores, o medo e a vergonha são elementos desfavoráveis à realização do exame, devido às falsas crenças perante a doença, à dor do exame ginecológico e ao recebimento de um resultado positivo. Também, há o temor do julgamento das pessoas ao seu redor, o que pode decorrer da idéia de que as mulheres só procuram consulta ginecológica quando acometidas por doenças sexualmente transmitidas (DSTs) (PINHO e FRANÇA-JUNIOR, 2003; CHUBACI e MERIGHI, 2005).

Enfim, são muitas as dificuldades a serem vencidas para aumentar a adesão das mulheres à coleta do exame de Papanicolaou. É importante salientar que a assimilação da prática deste exame passa principalmente pela conscientização dos seus benefícios, pela sua eficácia e importância pelos próprios gestores e de toda a equipe de saúde (BRENNA *et al.*, 2001; GAMARRA *et al.*, 2005).

Os objetivos deste estudo foram avaliar as atitudes e as práticas das mulheres sobre o exame preventivo de câncer de colo de útero e descrever o perfil das mulheres participantes.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi de cunho observacional, transversal e prospectivo, realizada com professoras, alunas e funcionárias que freqüentavam a Universidade Regional Integrada de Alto Uruguai e das Missões do município de Santo Ângelo, estado do Rio Grande do Sul. Foram incluídas na amostra as mulheres maiores de 18 anos que aceitaram em participar do estudo. O tamanho da amostra foi calculado com a seguinte fórmula: $n = Nz^2 (1-p) / [d^2 (N-1) + z^2p (1-p)]$. Onde, N = população total (2314); z = valor correspondente ao nível de confiança ao quadrado ($1,96^2=3,84$); d = precisão absoluta ao quadrado ($0,05^2=2,5^{-03}$); p = proporção da população com a característica em estudo (0,2), sendo estimada uma amostra de 222 mulheres.

Os dados foram coletados de 272 mulheres, por meio de um questionário anônimo individual, com perguntas fechadas. Os questionários foram distribuídos nas salas de aula dos cursos dos Departamentos de Ciências da Saúde, de Ciências Biológicas, de Ciências Sociais Aplicada, de Ciências Humanas, de Engenharias e Ciência da Computação e de Lingüística, Letras e Artes, e entre os funcionários administrativos e de serviços gerais. Após responderem ao questionário, as participantes colocaram-no em uma urna.

Para analisar as atitudes e práticas das mulheres sobre o exame preventivo de câncer de colo de útero foi investigada a realização do exame de Papanicolaou em algum momento da vida; a freqüência com que o realizam; as razões para a não realização; os motivos que levam a realização e o conhecimento sobre os seus resultados. Essas informações foram consideradas adequadas ou inadequadas conforme tabela 1. Para determinar o perfil das mulheres foram questionados a idade, a escolaridade, o estado civil e o número de filhos. Para a análise dos dados, foram adotadas as definições utilizadas por Brenna *et al.* (2001) e Gamarra *et al.* (2005).

TABELA I
Definições utilizadas para classificação das práticas e atitudes.

Adequado	Inadequado
Práticas	
- Já realizou o exame alguma vez na vida	- Nunca tinha realizado o exame
- A data do último exame foi nos últimos três anos	- A data do último exame foi há mais de três anos
- Realiza o exame a cada 1, 2 ou 3 anos	- Realiza o exame num período superior a 3 anos
Atitudes	
- Não ter motivos para não realizar o exame	- Ter apontado motivos ("desculpas") para não realizar o exame com regular freqüência
- Realiza o exame por procura espontânea	- Realiza o exame apenas quando indicado pelo médico, por queixas ginecológicas ou outros
- Retirou todos os resultados	- Retirou algum ou nenhum resultado

Fonte: Brenna *et al.* (2001) e Gamarra *et al.* (2005) modificado.

O projeto de pesquisa foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (COBE), número do cadastro 116-4/TCH/05 e CAAE 0237.0.232.000-05.

RESULTADOS

A amostra foi constituída por 272 mulheres que eram alunas, professoras e funcionárias da universidade. Destas, a maioria (58,52%; 160/272) tinha idade de 20-29 anos; 90,07% (245/272) das mulheres participantes da pesquisa tinham de 12-16 anos de escolaridade; 64,33% (175/272) eram solteiras e 74,63% (203/272) das mulheres não tinham filhos (Tabela 2).

TABELA II
Perfil das 272 participantes da pesquisa.

Perfil das Participantes	n	%
Faixa etária		
18-19	43	15,80
20-29	160	58,82
30-39	42	15,44
>40	27	9,92
Escolaridade		
1-8 anos	2	0,73
9-11 anos	7	2,57
12-16 anos	245	90,07
> 16 anos	18	6,61
Estado Civil		
Solteira	175	64,33
Casada/unida	85	31,25
Separada/divorciada/viúva	12	4,41
Paridade		
0	203	74,63
1-3	66	24,26
Mais 3	3	1,10

Quando foram analisadas as práticas das mulheres pesquisadas, com relação ao exame de Papanicolaou, 69,85% (190/272) já realizaram o exame, 66,17% (180/272) realizaram o último exame de 1 a 3 anos, mostrando adequação nas práticas do exame e, 64,70% (176/272) mostraram uma frequência de realização do exame adequada (Tabela 3). Conforme os dados apresentados na tabela 3 é possível verificar que o percentual de participantes com práticas inadequadas é em torno de 30%.

TABELA III
Práticas das participantes em relação ao exame de Papanicolaou.

	Total	Prática n (%)	
		Adequada	Inadequada
Realização do exame de Papanicolaou			
Sim	190	190 (69,85)	
Não	82		82 (30,14)
Total		190 (69,85)	82 (30,14)
Data do último exame			
1-3 anos	180	180 (66,17)	
A mais de 3 anos atrás	6		6 (2,20)
Não lembra	4		4 (1,47)
Nunca realizou o exame	82		82 (30,14)
Total		180 (66,17)	92 (33,82)
Freqüência com que realiza o exame			
Não lembra	9		9 (3,30)
A cada ano	151	151 (55,51)	
A cada 2 ou 3 anos	25	25 (9,19)	
A cada 5 anos ou mais	4		4 (1,47)
Não realiza	83		83 (30,51)
Total	272	176 (64,70)	96 (35,299)

Com relação à atitude, dentre as 272 mulheres que responderam ao questionário, 89 responderam a questão sobre o motivo para não realizarem o exame com mais frequência, sendo estas (100%, 89/89) classificadas com atitude inadequada (Tabela 4). Entre os motivos para a realização do exame, a procura espontânea foi respondida por 45,58% (124/272) das mulheres, sendo estas consideradas com atitude adequada (Tabela 4). Quanto ao conhecimento das participantes em relação aos resultados dos exames de Papanicolaou, foi observado que 66,17% (180/272) das mulheres apresentaram atitudes adequadas (Tabela 4).

TABELA IV
Perfil das 272 participantes da pesquisa.

	Total	Atitude n (%)	
		Adequada	Inadequada
Motivos para não realizar o exame com mais frequência			
Não sabem	31		31(34,83)
Não tem tempo	18		18 (20,22)
Vergonha ou medo	10		10 (11,23)
Acha desnecessário	17		17 (19,10)
Tem dificuldade de acesso	13		13 (14,60)
Total	89		89 (100)

Motivos para a realização do exame		
Procura espontânea	124	124 (45,58)
Queixas ginecológicas	9	9 (3,30)
Recomendação médica	39	39 (14,33)
Não responderam e outros	100	100 (36,76)
Total	272	124 (45,58) 148 (54,42)
Conhecimento dos resultados dos exames		
Todos	180	180 (66,17)
Algun	5	5 (1,83)
Nenhum	2	2 (0,73)
Não responderam	85	85 (31,25)
Total	272	180 (66,17) 92(33,82)

Quando foram analisadas as práticas e as atitudes ao exame de Papanicolaou, conforme o perfil das participantes, das 43 (15,80%) mulheres pesquisadas com idades de 18 e 19 anos, 76,75% (33/43) e 81,39% (35/43) mostraram práticas e atitudes inadequadas, respectivamente. A maior parte das mulheres que estavam na faixa etária de 20-29 anos mostraram práticas adequadas e atitudes inadequadas. As mulheres com mais de 16 anos de escolaridade, casadas e com 1 a 3 filhos mostraram atitudes e práticas mais adequadas em relação ao exame de Papanicolaou (Tabela 5).

TABELA V
Prática e atitude em relação ao exame preventivo de câncer de colo de útero conforme o perfil das participantes.

Perfil	Total	Prática n (%)		Atitude n (%)	
		Adequada	Inadequada	Adequada	Inadequada
Faixa etária					
18-19	43	10 (23,25)	33 (76,75)	8 (18,60)	35 (81,39)
20-29	160	101 (63,12)	59 (36,87)	61 (38,12)	99 (61,87)
30-39	42	34 (80,95)	8 (19,04)	24 (57,14)	18 (42,85)
≥40	27	26 (96,29)	1 (3,70)	17 (62,96)	10 (37,03)
Escolaridade					
1-8	2	2 (100)	0 (0)	1 (50)	1 (50)
9-11	7	4 (57,14)	3 (42,85)	3 (42,85)	4 (57,14)
12-16	245	147 (60)	98 (40)	95 (38,77)	150 (61,22)
>16	18	18 (100)	0 (0)	11 (61,11)	7 (38,38)
Estado civil					
Solteira	175	85 (48,57)	90 (51,42)	48 (27,42)	127 (72,57)
Casada	85	79 (92,94)	6 (7,06)	55 (64,70)	30 (35,29)
Separada	12	7 (58,33)	5 (41,66)	7 (58,33)	5 (41,66)
Paridade					
O	203	115 (56,65)	88 (43,34)	68 (33,49)	135 (66,51)
1-3	66	54 (81,81)	12 (18,18)	41 (62,12)	25 (37,87)
>3	3	2 (66,66)	1 (33,33)	0 (0)	3 (100)

DISCUSSÃO

Lopes *et al*, em 1995, pesquisaram sobre o comportamento da população feminina brasileira em relação ao câncer cérico-uterino. Das mulheres pesquisadas, 62% tinham idade até 39 anos e 38% tinham idade de 40 anos ou mais. Da mesma forma, no estudo de Gamarra *et al.*, em 2005, com mulheres argentinas, os pesquisadores observaram que

37,5% das mulheres tinham idade superior a 40 anos, com relação ao número de filhos, 9% não tinham filhos, 35% tinham de 1-3 filhos, 29% tinham 4-6 filhos, e 27% tinham sete ou mais filhos. Já no estudo de César *et al.*, em 2003, onde foram avaliados fatores associados à não realização do exame citopatológico de colo uterino no extremo sul do Brasil, cerca de 10% das mulheres possuíam idades entre 15-19 anos, e 24% das mulheres tinham idades entre 40-49 anos. No estudo de Ferreira e Oliveira, em 2006, que estudaram o conhecimento e significado da prevenção de câncer de colo uterino em funcionárias de indústrias têxteis, 43,2% das mulheres tinham idades de 30-40 anos, 55,6% das mulheres tinham de 1-8 anos de escolaridade e 38,3% tinham de 9-12 anos de escolaridade. Também, podemos citar o estudo de Ramos *et al.*, em 2006, que estudaram o perfil de mulheres de 40-49 anos quanto à realização do exame de Papanicolaou, em que 49% das mulheres estudadas tinham no máximo de 1-8 anos de escolaridade, 1,4% eram analfabetas e 19,2% tinham 12-16 anos de escolaridade.

Esta pesquisa, o perfil observado foi de uma população mais jovem onde 74,62% (203/272) estavam na faixa dos 18-29 anos, apenas 0,76% (2/272) tinham apenas de 1-8 anos de escolaridade, e a maioria (90,07%, 245/272) tinha 12-16 anos de escolaridade e por se tratar de uma população feminina de estudantes universitárias, foi observado que o número de mulheres que não tem filhos era de 74,63% (203/272). Esses dados diferem dos demais estudos acima citados, pelo fato de que a maioria das mulheres estudadas na nossa pesquisa eram estudantes de uma universidade e não mulheres da população em geral (LOPES *et al.*, 1995; CÉSAR *et al.*, 2003; GAMARRA *et al.*, 2005; FERREIRA e OLIVEIRA, 2006; RAMOS *et al.*, 2006).

Com relação a *atitudes* das participantes ao exame de papanicolaou, foram analisados os motivos para a realização de exames. Dentre os motivos mais relatados, no presente estudo, a procura espontânea foi relatada por 45,58% (124/272) das mulheres que já realizaram o exame, o segundo motivo foi recomendações médicas (14,33%), seguido de queixas ginecológicas (3,30%), estando de acordo com aos dados de Pinho *et al.*, onde 55,5% das mulheres relataram como primeiro motivo a procura espontânea, seguido de recomendações médicas e queixas ginecológicas. Em relação às razões pelo qual não realizam o exame com mais frequência, neste estudo, 32,72% (89/272) das mulheres responderam algum motivo para a não realização do exame. Destas, 19,10% (17/89) por achar desnecessário e 11,23% por vergonha ou medo, estando em desacordo com outros estudos da literatura. Isto pode ser explicado pela diferenças da população estudada, uma vez que no nosso estudo, as mulheres tinham maior escolaridade (BRENNNA *et al.*, 2001; PINHO *et al.*, 2003; CHUBACI e MERIGHI, 2005; GAMARRA *et al.*, 2005).

Porém, ainda analisado a *atitude sobre o recebimento dos resultados dos exames*, das mulheres pesquisadas neste estudo, 66,17% (180/272) tiveram atitude adequada. Este dado é semelhante ao de Lopes *et al.* (58%) e inferior ao de Pinho *et al.* (87%), apesar de ter sido pesquisado em populações diferentes (LOPES *et al.*, 1995; PINHO *et al.*, 2003). Ao analisarmos a *prática* das mulheres, deste estudo, com relação à realização do exame, 69,85% (190/272) das mu-

lheres já realizaram o exame de Papanicolaou alguma vez na vida, enquanto que 30,14% (82/272) nunca realizaram o exame. Das mulheres com idade de 18-19 anos (15,80%, 43/272), 75% (30/43) nunca realizaram o exame preventivo, por não acharem necessário à realização deste exame, mostrando, com isto, que existe uma visão errônea sobre o período para o início da realização deste exame preventivo. Estes dados não estão em conformidade com os dados do estudo de César *et al.*, porém estão de acordo outros estudos, apesar de ter sido pesquisado em populações diferentes (LOPES *et al.*, 1995; CÉSAR *et al.*, 2003; PINHO *et al.*, 2003; SANTIAGO e ANDRADE, 2003; FERREIRA e OLIVEIRA, 2006).

Neste estudo, para 66,17% das mulheres, a *prática da realização do último exame de Papanicolaou* foi ao período de 1-3 anos. Esses dados são semelhantes ao relatado por Ferreira e Oliveira, onde existe uma boa adequação de práticas das mulheres devido ao incentivo e a oportunidade oferecida pela empresa, de criar um hábito anual para realizar o exame (FERREIRA e OLIVEIRA, 2006).

Já neste estudo, 64,70% realizam o exame a cada 1, 2 ou 3 anos, mostrando, assim como no estudo de Lopes *et al.*, *práticas adequadas na frequência de realização do exame*. Analisando a *prática e atitude em relação ao exame preventivo de câncer de colo de útero conforme o perfil das participantes*, observou-se no nosso estudo que das 272 mulheres pesquisadas, 30,14% (82/272) mostraram atitude inadequada, sendo que as mulheres de mais idade mostraram uma maior adequação nas atitudes, diferindo do estudo de Brenna *et al.* e de Gamarra *et al.*, porém, estando de acordo com outros estudos (BRENNNA, *et al.*, 2001; AGUILAR-PÉREZ *et al.*, 2003; CÉSAR *et al.*, 2003; GAMARRA *et al.*, 2005).

No presente estudo, 61,11% (11/18) das mulheres com escolaridade acima de 16 anos tiveram *atitude e prática adequada em relação ao exame*. Esses dados diferem do estudo de Ramos *et al.*, e se assemelham a outros estudos. Porém, com as mulheres de até 8 anos de escolaridade, devido ao pequeno número de participantes deste trabalho com esta característica, não foi possível fazer este tipo de generalização (LOPES *et al.*, 1995; GAMARRA *et al.*, 2005; RAMOS *et al.*, 2006).

Na pesquisa de Gamarra *et al.*, as proporções mais altas de *atitude adequada sobre o exame* foram identificadas em mulheres com paridade mais baixa (nenhum filho e de 1-3 filhos). Esses dados se assemelham aos deste estudo, onde 62,12% (41/66) das mulheres com 1-3 filhos apresentaram atitude adequada (GAMARRA *et al.*, 2002).

No estudo de Ramos *et al.*, a realização do exame preventivo (*prática*) é maior em mulheres com 3 ou mais filhos. Segundo Chubaci e Merighi, no estudo sobre a vivência de mulheres japonesas e brasileiras em relação a realização do exame de Papanicolaou, as mulheres japonesas associam o exame de Papanicolaou ao parto, mais que as brasileiras, ou seja, o fato de serem casadas e ter filhos motivadas para a realização do exame. Neste estudo esse dado não foi analisado pelo pequeno número de mulheres com essa característica (3 ou mais filhos), não podendo ser usado em comparação com os outros estudos (CHUBACI e MERIGHI, 2005; RAMOS *et al.*, 2006).

Neste estudo foi constatado que 92,94% das mulheres ca-

sadas ou unidas mostraram boa adequação nas *práticas* do exame. Outro dado importante deste estudo se refere às mulheres solteiras, onde menos de 50% (48,57%, 85/175) tiveram uma *prática* adequada. Isto mostra que são necessárias campanhas de esclarecimento em relação ao exame preventivo. Estes dados concordam com os dados do estudo de César *et al.*, e diferem dos dados do estudo de Gamarra *et al.* (GAMARRA *et al.*, 2002; CÉSAR *et al.*, 2003).

CONCLUSÃO

Conforme os dados do estudo, pode-se concluir que: a maioria tinha idade de 20-29 anos, tinha de 12-16 anos de escolaridade, era solteira e não tinha filhos. Das mulheres participantes do estudo, 15,80% tinham idades de 18 e 19 anos. Destas, a maioria mostrou práticas e atitudes inadequadas. Com relação à escolaridade, as mulheres com mais de 16 anos de escolaridade, casadas, com 1-3 filhos mostraram atitudes e práticas mais adequadas em relação ao exame de Papanicolaou. Das mulheres pesquisadas, a maioria (69,85%) já realizou o exame, realizou o exame de 1 a 3 anos e, mostrou uma frequência de realização do exame de 1 a 3 anos, mostrando adequação nas práticas do exame. Com relação à atitude, 89 mulheres responderam um motivo para não realizarem o exame com mais frequência, sendo que todas estas foram classificadas com atitude inadequada. Entre os motivos para a realização do exame, a procura espontânea foi respondida por 45,58% (124/272) das mulheres. Das mulheres participantes da pesquisa, a maioria (66,17%) teve atitude adequada em relação ao conhecimento dos resultados dos exames. Encontrou-se um alto índice de mulheres que não procuram espontaneamente o exame preventivo (54,42%) e que não receberam todos os seus resultados (33,83%), isto mostra que são necessárias campanhas de esclarecimento em relação ao exame preventivo.

REFERÊNCIAS

1. ÁGUILAR-PÉREZ, J.A.; LEYVA-LÓPES, A.G.; ÂNGULO-NÁJERA, D.; SALINAS A.; LACZANO-PONCE E.C. Tamizaje em câncer cervical: conocimiento de la utilidad y uso de citología cervical en México. *Revista de Saúde Pública*. v. 37, n. 1, p. 100-106, 2003.
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer (INCA). Câncer do colo do útero. Disponível em: < <http://www.inca.gov.br> > Acessado em 30 de mai. 2006a.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer (INCA). Incidência de câncer no Brasil. Estimativas para 2006. Disponível em: < <http://www.inca.gov.br> > Acessado em 30 de mai. 2006b.
4. BRENNAN, S. M. F.; HARDY, E.; ZEFERINO, L.C.; NAMURA I. Conhecimentos, atitudes e prática do exame Papanicolaou em mulheres com câncer de colo uterino. *Caderno de Saúde Pública*. v. 17, n. 4, p. 909-914, 2001.
5. CÉSAR, J.A., HORTA, B.L.; GOMES, G. HOULTHAUSEN R.S.; WILLRICH R. M.; KAERCHER A.; IASTRENSKI F. M. Fatores associados à não realização de exame citopatológico de colo uterino no extremo sul do Brasil. *Caderno de Saúde Pública*. v. 19, n. 5, p. 1365-1372, 2003.
6. CHUBACCI, R.Y.S., MERIGHI, M.A.B. Exame para detecção do câncer cervico-uterino: vivência de mulheres das cidades de Kobe e Kawasaki, Japão e São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Saúde Materna e Infantil*. v.5, n.4, p. 471-481, 2005.
7. FERREIRA M.L.M. e OLIVEIRA C. Conhecimento e significado para funcionárias de indústrias têxteis sobre prevenção do câncer de colo de uterino e detecção precoce do câncer de mama. *Revista Brasileira de Cancerologia*. v. 52. n. 1, 2006
8. GAMARRA, C.J.; PAZ, E.P.A.; GRIEP, R.H. Conhecimentos, atitudes e práticas do exame Papanicolaou entre mulheres argentinas. *Revista de Saúde Pública*. v. 39, n. 2, p. 270-276, 2005.
9. HAAS, P.; PALUDO, R.F.; SAVI, L.A.; MIRANDA, M.L. Vantagens da citologia de monocamada em preventivos de câncer do colo de útero. *Revista Brasileira De Análises Clínicas*. v. 35, n.3, p. 143-146, 2003.
10. LOPES, E. R.; REBELO, M.S.; ABREU, E.; SILVA, V.L.C.; EISENBERG A.L. A.; LAVOR M.F. Comportamento da população brasileira feminina em relação ao câncer cervico-uterino. *Jornal Brasileiro de Ginecologia*. v. 105, n. 11/12, p. 505-515, 1995.
11. MENDES, J.C.; SILVEIRA, L.M. da S.; PAREDES, A. de O. Lesão intra-epitelial cervical: existe correlação entre o tempo de realização do exame de Papanicolaou e o aspecto do colo uterino para o aparecimento da lesão? *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. v. 36, n. 4, p. 191-196, 2004.
12. PINHO, A.A.; FRANÇA JUNIOR, I. Prevenção do câncer de colo do útero: um modelo teórico para analisar o acesso e a utilização do teste de Papanicolaou. *Revista Brasileira de Saúde Materna e Infantil*. v. 3, n. 1, p. 95-112, 2003.
13. PINHO, A.A.; FRANÇA JUNIOR, I.; SCHRAIBER, L.B.; D'OLIVEIRA, A.F.P.L. Cobertura e motivos para a realização ou não do teste de Papanicolaou no município de São Paulo. *Caderno de Saúde Pública*. v.19, n. 2, p. 5313-5313, 2003.
14. RAMOS, A.S.; PALHA P.F.; COSTA JÚNIOR, M.L. SANT'ANNA, S.C.; LENZA, N.F.B. Perfil de mulheres de 40 a 49 anos cadastradas em um núcleo de saúde da família, quanto à realização do exame preventivo de Papanicolaou. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*. v. 14, n. 2, 2006.
15. SANTIAGO, S.M.; ANDRADE M.G.G. Avaliação de um programa de controle de câncer cervico-uterino em rede local de saúde da região sudeste do Brasil. *Caderno de Saúde Pública*. v.19, n.2, p. 571-578, 2003.
16. SANTOS, A.L.F.; DERCHAIN, S.F.M.; CALVERT, E.B.; MARTINS M.R.; DU-FLOTH, R.M.; MARTINEZ, E.Z. Desempenho do exame colpocitológico com revisão por diferentes observadores e da captura híbrida II no diagnóstico da neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 e 3. *Caderno de Saúde Pública*. v. 19, n. 4. p. 1029-1037, 2003.
17. SILVA, H.A.; SILVEIRA, L.M.S.; CORRÊA, P.B.F.; SOUSA M.G.T. A influência da fase pré-analítica no controle de qualidade do diagnóstico colpocitológico. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. v. 34, n. 3, p. 131-135, 2002.
18. SILVEIRA, L.M.S.; SILVA, H.A.; PEREIRA, I.S.; PINHEIRO V.M.F. Critérios citomórficos para o diagnóstico de HPV e sua relação com a gravidade da neoplasia intra-epitelial cervical. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. v. 37, n. 2, p. 129-134, 2005.
19. ZONTA, M.A.; MARTINS, C.A.S.; ABEL, M.N.C. Correlação entre colpocitologia inflamatória e detecção do papilomavírus humano por reação em cadeia pela polimerase (PCR). *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. v. 37, n. 2, p. 103-105, 2005.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Vera Regina Andrade Vargas
Rua Barão de Santo Ângelo, 1305
CEP: 98801-740 Santo Ângelo - RS
Fones: (55) 3313-7990
E-mail: vvargas@urisan.tche.br

PRÊMIO PNCQ

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

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

II - DOS OBJETIVOS

O "Prêmio PNCQ" tem por objetivos:

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

III - DA PARTICIPAÇÃO

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

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

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

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

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

Rio de Janeiro, 30 de dezembro de 2004.

Dr. Ulisses Tuma
Presidente

Informações:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio PNCQ

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

Prevalência de HPV de baixo e alto risco pela técnica de biologia molecular (Captura Híbrida II®) em Santa Catarina

Prevalence of HPV of low and high-risk for the technique of molecular biology (Hybrid captures II®) in Santa Catarina

Júlio Araújo Zampirolo¹, Júlio Cezar Merlin² & Maria Elizabeth Menezes³

RESUMO - O Papilomavírus Humano (HPV) vem sendo intensamente pesquisado em virtude da sua grande ocorrência na população mundial e da íntima relação com a carcinogênese cervical. Baseado neste fato, o presente estudo tem por objetivo verificar a prevalência e a incidência de HPV de baixo e alto risco oncogênico pela técnica de biologia molecular (Captura Híbrida II®), bem como a faixa etária mais acometida. Foram analisados 12.211 exames do Estado de Santa Catarina coletados a partir do banco de dados do setor de doenças infecciosas do Laboratório de Análise e Pesquisa do Gene – DNAnálise, sediado na cidade de Florianópolis-SC, no período de 2001-2005. Os resultados obtidos apontam a grande incidência de HPV na população estudada, apresentando 53,8% de positividade, onde, destes, 66,4% foi HPV de alto risco. No entanto, quando comparada à prevalência de HPV de baixo e a de alto risco em relação à faixa etária, o HPV de baixo risco teve uma maior incidência na população abaixo dos 25 anos (48%) e até os 35 anos (33%). Já na faixa etária de 36 a 45 anos (22%), e acima de 45 (8%) a maior incidência foi de HPV de alto risco. Isso demonstra a importância da realização de exame específico, por metodologias mais sensíveis, como testes de biologia molecular (Captura Híbrida), para garantir o diagnóstico precoce, deste que vem sendo considerado o maior agente causador de câncer cervical.

PALAVRAS-CHAVE - Papilomavírus Humano (HPV), Captura Híbrida, Prevalência, Incidência.

SUMMARY - Human Papillomavirus (HPV) has been intensely researched in all over the world due to its high occurrence in the world population and its close relationship with the cervical cancer. Based on that, one of the objectives of this study was to check out the prevalence and the incidence of low and high-risk oncogenic HPV using Molecular Biology techniques (Hybrid Captures II®), checking also a specific aging group accommited by it. A number of 12.211 exams of Santa Catarina State were analyzed (2001-2005). The data was collected from the Infectious Disease Sector database of DNAnálise - Laboratory of Research and Analysis of the Gene, headquartered in Florianópolis. The results have showed that there is a high incidence of HPV in the studied population, presenting 53,8% of positive results. Of these 53,8%, 66,4% was high-risk HPV. The prevalence of low and high-risk HPV was compared to the aging group. The low risk HPV has had a larger incidence in the population below age 25 (48%) and until age 35 (33%). However in the group between ages 36 and 45 (22%) and above 45 (8%) the largest incidence was high risk HPV. These numbers demonstrate how important is to do a specific exam using more sensitive technologies, as Molecular Biology tests (Hybrid Captures), to guarantee the precocious diagnosis to prevent the development of cervical cancer caused mostly by this virus.

KEYWORDS - Human Papillomavirus (HPV), Hybrid Captures, Prevalence, Incidence.

INTRODUÇÃO

O Papilomavírus Humano (HPV) é um vírus que infecta células epiteliais da pele e da mucosa, causando diversos tipos de lesões como a verruga comum e a verruga genital (condilomatose). Compõem uma família de vírus com mais de 100 tipos e subtipos, sendo que alguns deles, no colo uterino, podem ocasionar lesões que, se não tratadas, têm o potencial de progressão para o câncer^{5,13}.

Em 1996, o "Center for Disease Control and Prevention (CDC) estimou em 500 mil a 1 milhão de casos novos por ano de infecção pelo HPV, 80 mil casos de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), 200 a 500 mil de Herpes, 100 mil casos de Sífilis e 800 mil casos de Gonorréia. Na ocasião, os índices de HPV eram suplantados apenas por infecção por *Chlamydia sp* (4 milhões) e por *Trichomonas sp* (3 milhões)⁵.

Nas últimas décadas, diversos estudos foram realizados e associaram a infecção por HPV com a carcinogênese cervical. Atualmente, a infecção por HPV é considerada como a Doença Sexualmente Transmissível (DST) de origem viral mais incidente na população mundial, apresentando um

caráter emergente, o que representa um grave problema em termos de saúde pública^{4,12,14}.

Segundo a Organização Mundial de Saúde o fator etiológico mais relacionado ao câncer do colo do útero é o HPV^{15,20}. Este por sua vez, pode ser dividido em dois grupos: baixo risco e de alto risco oncogênico. Os HPVs de baixo risco quase nunca são encontrados em cânceres invasivos, enquanto os de alto risco são os mais frequentemente associados a esses tumores. É importante destacar que a infecção pelo HPV de alto risco oncogênico não implica inevitável desenvolvimento de câncer¹⁹.

Durante os últimos 20 anos, alguns tipos de HPV foram associados a específicos tipos de cânceres. Mais de 80 tipos já foram identificados e completamente seqüenciados. Aproximadamente 30 tipos de HPV infectam o trato anogenital. Os principais representantes dos HPVs classificados como de baixo risco ou benignos são os tipos 6, 11, 42, 43 e 44 que não induzem contínuo crescimento com concomitante desorganização em células escamosas e estão associados com lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau. Os tipos de HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68 são considerados de alto risco e estão relacionados à

Recebido em 20/09/2006

Aprovado em 24/05/2007

Monografia apresentada para obtenção de Título de Especialista em Microbiologia pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR.

¹Farm. Bioquímico – Especialista em Biologia Molecular e Biossegurança, Responsável pelo Setor de Doenças Infecciosas Laboratório DNAnálise, Florianópolis, SC;

²Mestre em Biologia Celular e Morfologia pela Universidade Federal do Paraná – UFPR; Especialista em Hematologia e Citopatologia pela Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG; Professor Assistente III dos Cursos de Farmácia e Bioquímica, Medicina e Curso de Especialização em Microbiologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR; ³Farm. Bioquímica, PhD, Diretora-técnica-proprietária do DNAnálise – Laboratório de Pesquisa e Análise do Gene – Florianópolis – SC.

lesão intra-epitelial escamosa de alto grau e carcinoma cervical. Mais de 98% das lesões intra-epiteliais escamosas contêm o DNA do HPV, determinado por métodos de biologia molecular^{11, 16, 22}.

A infecção genital por HPV é mais freqüente em jovens, estando o pico na faixa entre 20 e 24 anos¹⁷. Das mulheres infectadas, 80% não apresentam sintomas clínicos e, em cerca de 60 a 70% dos casos, a infecção regride espontaneamente. Somente em 14% há progressão até lesões intra-epiteliais. A persistência da infecção por HPV de alto potencial oncogênico é fator de risco para o desenvolvimento do câncer cervical¹³. Durante a década de 80, estudos sugeriram que infecções sub-clínicas cervicais estariam associadas com pacientes jovens, múltiplos parceiros, gravidez e história anterior de verrugas genitais. Além da atividade sexual, no entanto, outras variáveis podem influenciar o risco de desenvolver infecção pelo HPV, como paridade, uso de anticoncepcionais orais e tabagismo⁵.

A principal via de transmissão do HPV genital é o contato sexual. O diagnóstico da infecção por HPV leva em conta o histórico do paciente, o exame físico e os exames complementares. Dentre as técnicas utilizadas para o diagnóstico podem-se citar: histologia, citologia cérvico-vaginal ou Papanicolaou, colposcopia e peniscopia, biópsia, e captura híbrida^{13, 32}. Estudos mostram que virtualmente 100% dos carcinomas do colo uterino estão associados ao HPV e, mais especificamente, aos denominados de alto risco. Desta maneira, a identificação do vírus tornou-se de interesse crescente como método de "screening" ou associado a colpocitologia oncótica¹⁸. A adição do teste de HPV de alto risco, através da biologia molecular, à citologia, em comparação com a citologia isolada, melhora dramaticamente a identificação das mulheres com risco de câncer cervical. Mulheres com HPV de alto risco estão mais suscetíveis à anormalidades na citologia cervical que mulheres sem HPV de alto risco⁷. A determinação das mulheres infectadas pelo HPV de alto risco irá melhor selecionar as mulheres com risco aumentado para câncer invasor, permitindo o tratamento precoce e a diminuição da morbidade por esse tipo de tumor^{10, 18}.

Há mais de uma década que técnicas de detecção molecular tais como Southern Blotting, Dot Blot, Captura Híbrida e vários métodos de hibridização "in situ" preenchem critérios para uso em rastreamento de populações, uma vez que a infecção viral precede, um período relativamente longo, as alterações morfológicas, revelando informações da associação entre a detecção do vírus e a presença de lesões pré-malignas. No entanto, quando métodos de detecção tão sensíveis quanto a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tornaram-se disponíveis, percebeu-se que a infecção por HPV estava mais dispersa do que se pensava anteriormente e possibilitou o esclarecimento do papel etiológico do HPV no câncer genital^{30, 31}. Estes por sua vez, são testes altamente reproduzíveis e também são exames não invasivos⁶. Os métodos para detecção do HPV utilizando biologia molecular possibilitam inclusive a tipagem e a quantificação viral²¹.

A captura de híbridos (*Digene Diagnostics Inc.*) para detecção do HPV é um exame de biologia molecular altamente sensível, capaz de detectar 18 dos aproximadamente 30 tipos de HPV que mais comumente infectam o trato anogenital e que são responsáveis por aproximadamente 95% dessas infecções^{3, 9}. No Brasil, essa técnica para diagnóstico clínico do HPV foi aprovada em 1995, pelo Ministério da Saúde. Todos os testes de captura híbrida são, ao mesmo tempo, qualitativos e quantitativos⁵.

O teste de captura híbrida de segunda geração (CH II), tem mostrado ter sensibilidade e especificidade na análise da quantidade de DNA do grupo viral do HPV de baixo e alto risco^{1, 2, 8}.

MATERIAL E MÉTODO

Este estudo constituiu em uma análise retrospectiva de 12.211 exames realizados no período de 2001 – 2005, coletados no Estado de Santa Catarina, através da consulta do banco de dados do Setor de Doenças Infecciosas do Laboratório de Análise e Pesquisa do Gene – DNA análise, sediada na cidade de Florianópolis, referência em Biologia Molecular no Estado de Santa Catarina.

Foram inclusos no estudo os exames que apresentaram resultado positivo para HPV, incluindo os dois grupos, de baixo e alto risco, de ambos os sexos, independente da faixa etária. Os exames foram realizados através da pesquisa do DNA-HPV pela técnica molecular de Captura Híbrida II (*Digene*®) que avalia a presença de 18 tipos de HPV, divididos em dois grupos conforme o risco oncogênico, que mais comumente infectam o trato anogenital. O grupo A possui sondas para os HPV de baixo risco (6, 11, 42, 43, e 44) e o grupo B, sondas para os HPV de intermediário/alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68). As sondas consistem de moléculas de RNA complementares ao DNA dos tipos acima especificados. As moléculas complementares ou híbridos são posteriormente conjugados com anticorpos monoclonais que contêm um fosfato alcalino. Esse material é lavado posteriormente, só permanecendo os anticorpos ligados ao RNA / DNA.

Um substrato quimioluminescente, que se liga ao fosfato alcalino, é misturado ao material e a leitura é feita em um luminômetro, sendo a luz emitida em unidades relativas de luz que é comparada com o controle (RLU/PC). A sensibilidade do método é de 1 pg/ml de DNA-HPV, equivalente a 0,1 cópia de vírus/célula. Por esta sensibilidade, o teste de Captura Híbrida é ao mesmo tempo qualitativo e quantitativo. Foram considerados positivos os resultados iguais ou superiores a 1 pg/ml, equivalente a 0,1 cópias virais/célula. Foi feito um levantamento dos resultados positivos, verificando a prevalência do HPV de baixo e alto risco, e a incidência por faixa etária. De acordo com as idades, agruparam-se casos, nos seguintes grupos: até 24 anos, 25 a 35 anos, 36 a 45 anos e acima de 45 anos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentro dos 12.211 exames, apresentaram resultado positivo para HPV de baixo e/ou alto risco, o total de 6.120, correspondendo a 53,8% dos exames realizados no período de 2001 a 2005 (Fig.1).

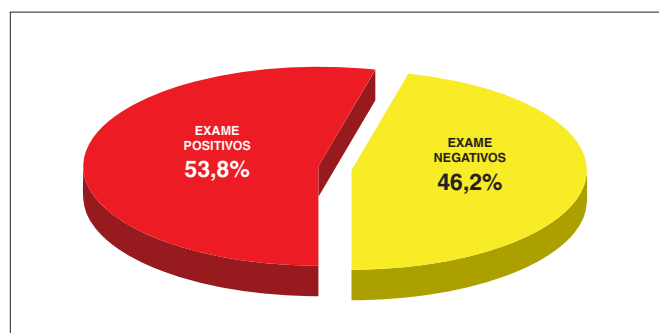


FIGURA 1. Distribuição percentual do número de exames positivos e negativos para HPV no período de 2001-2005.

O grande número de exames cujo resultado foi positivo para HPV, demonstra a importância deste exame. A infecção pelo HPV é uma das doenças sexualmente transmissíveis mais comuns em todo o mundo. Estimativas demonstram que cerca de 24 milhões de americanos estão infectados com HPV, e a frequência de infecção e da doença parece estar aumentando²⁴. O Brasil é um dos líderes mundiais em incidência de HPV²³.

A explicação para tantos casos pode ser o fato da infecção se desenvolver de forma silenciosa no corpo humano. A maioria das pessoas não possui nenhum sintoma ao contrair a doença, e não procura tratamento. O comportamento sexual é o grande responsável pela disseminação do vírus²³. Em relação à prevalência do HPV de baixo e alto risco, verificou-se que 33,6% dos exames positivos foi de baixo risco (A), apresentando assim 66,4 % para alto risco (B); como mostra a Fig. 2.

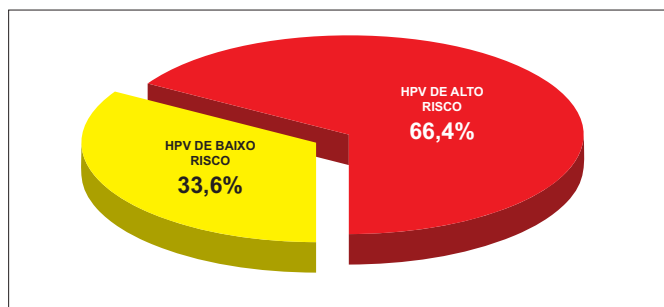


FIGURA 2. Distribuição percentual da prevalência de HPV de baixo e alto risco no período de 2001- 2005.

Somente certos tipos de HPV estão relacionados com câncer cervical. Estes normalmente são chamados "tipos de alto risco". Os tipos de HPV que causam verrugas genitais externas são chamados "tipos de baixo risco". É comum que a pessoa seja exposta a mais de um tipo de HPV e a vários "tipos de alto risco"^{5,23,24}.

Estudos realizados no Instituto Ludwig de Pesquisas sobre o Câncer apontam que mais de 90% dos cânceres de colo de útero tem DNA de HPV e, em torno de 25% da população sexualmente ativa no Brasil seja portadora do vírus²⁴. No presente estudo foi encontrada alta porcentagem de HPV de alto risco, o que indica a importância da realização de um exame específico para detectar o vírus do HPV, podendo assim diminuir a morbidade do câncer de colo de útero. Constatou-se que 43,35% dos exames com resultado de HPV positivo eram de indivíduos com menos de 25 anos; e 30,33% dos exames, de indivíduos entre 25 aos 35 anos. A faixa etária dos 36 aos 45 anos, representou 18,99% das amostras positivas. E, por fim, 7,34% das amostras positivas estavam dentro da faixa etária superior a 45 anos, conforme exposto no gráfico 1. Esses dados demonstram que indivíduos com menos de 25 anos, tiveram maior prevalência para HPV positivo, e essa prevalência foi diminuindo com o avanço da idade.

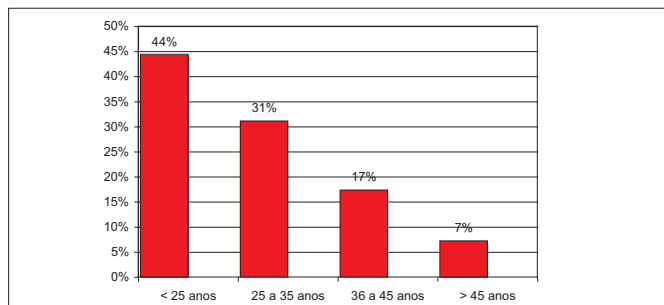


GRÁFICO 1 – Incidência de HPV positivos de alto e baixo risco por faixa etária no período de 2001-2005.

Sendo os exames positivos predominantes na faixa etária abaixo dos 25 anos, e o acometimento significativo até os 35 anos, os resultados obtidos nesta pesquisa apresentam-se coerentes com os dados encontrados na literatura em relação à distribuição dos resultados positivos para HPV de baixo e/ou alto risco nas diferentes faixas etárias. As vítimas "preferenciais" desse vírus são as que estão entre 15 e 25 anos²³.

A infecção por HPV é mais comum em pessoas sexualmente ativas entre 20 e 24 anos, independente do tipo viral. Após esta idade, a incidência declina gradativamente; como ilustra o gráfico 1. Estudos realizados em países desenvolvidos detectaram menos de 10% de positividade ao HPV em indivíduos na faixa dos 40 anos²³.

O gráfico 2 ilustra a prevalência de HPV de baixo e alto risco por faixa etária; verificando que abaixo dos 35 anos houve uma maior prevalência do HPV de baixo risco. Este fato pode ser explicado, em partes, pelo aumento da frequência sexual nesta idade, o que acarreta em uma maior periodicidade na prática de exames de prevenção, diminuído a incidência de câncer de colo uterino. Já na faixa etária acima de 35 anos, há uma maior incidência de HPV de alto risco, comparado com a de baixo risco.

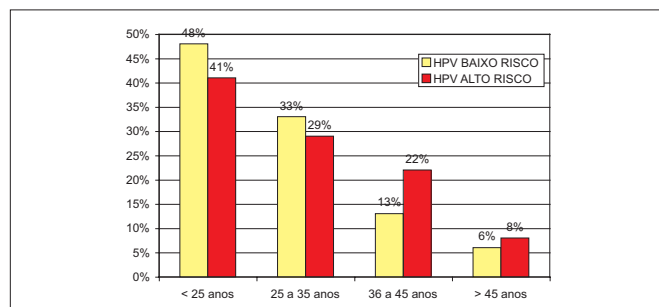


GRÁFICO 2 – Distribuição da incidência de HPV de baixo e alto risco por faixa etária no período de 2001-2005.

No Brasil os dados estatísticos são escassos e não traduzem com certeza a verdadeira magnitude da infecção induzida pelo HPV, todavia, ratificam a tendência mundial do avanço da virose.

CONCLUSÃO

Verificou-se com o desenvolvimento deste trabalho, a grande incidência do HPV na população estudada, apresentando 53,8% de positividade, onde, destes, 66,4% foi HPV de alto risco. No entanto, quando comparada à prevalência do HPV de baixo e alto risco em relação à faixa etária, o HPV de baixo risco teve uma maior incidência na população abaixo dos 25 anos (48%), e até os 35 anos (33%). Já na faixa etária de 36 a 45 anos (22%), e acima de 45 (8%) o HPV de alto risco foi mais prevalente.

Com os resultados deste estudo nos permite inferir que o contágio pelo HPV acontece no início da vida sexual, na adolescência ou por volta dos 20 anos. Esta infecção será transitória na maioria das vezes e não haverá evidência clínica de doença, que poderá ser suprimida ou até curada. Outras apresentarão lesões de menor importância que podem regredir espontaneamente. Uma minoria de mulheres desenvolverá uma infecção persistente pelo HPV, talvez como resultado de incompetência imunológica. Algumas

destas infecções persistentes contêm tipos virais mais frequentemente associados aos precursores mais graves do câncer cervical e progredirão para estas lesões. A maior parte destes diagnósticos dá-se entre os 25 e 35 anos, enquanto os diagnósticos de câncer cervical são mais frequentes entre 35 e 45 anos.

As infecções genitais, anais e perianais por HPV são DST que se manifestam em homens e mulheres, e sua associação com a chamada "revolução sexual" do final do século XX, vêm dando a esta virose o status de uma verdadeira epidemia. Com isso, destaca-se a importância da detecção do HPV através de metodologias mais sensíveis, como testes de biologia molecular (Captura Híbrida II®), para garantir o diagnóstico precoce deste que vem sendo considerado o maior agente causador de câncer de colo de uterino.

REFERÊNCIAS

1. Apgar, B. S.; Brotzman, G. HPV testing in the evaluation of the minimally Abnormal Papanicolaou smear. *Am. Fam. Physic.* 59: 2794 – 800, 1999.
2. Bergeron, C. et al. Human Papillomavirus testing in women with mild cytologic Atypia. *Obstet. Gynecol.* 2000; 95: 821 – 7.
3. Bigio, C T; Barbosa, F A; e Cavalcanti, S. M. B. Detecção e Tipagem Viral para Papilomavírus Humanos: Progressos Recentes e Perspectivas Clínicas. DST – J. Brás. Doenças Sex. Transm. 2002; v.14 n.4: 32-5.
4. Bonfiglio, T. A.; Erozan, Y. E. *Gynecologic cytopathology*, New York Lippincott – Raven, 1997
5. Carvalho J. J. L.; Oyakawa, N. I. *Consenso Brasileiro de HPV*. 1a ed. São Paulo: BG Cultural. 2000; 49-57.
6. *Cervical Cytology Practice Guideline*. American Society of Cytopathology. 2000 November 10.
7. Clavel C., et al. Comparative analysis of human papillomavirus detection by hybrid capture assay and routine cytologic screening to detect high-grade cervical lesions. *Int J Cancer* 1998; 75: 525-8.
8. Clavel C., et al. Human Papillomavirus detection by the hybrid capture II assay: a reliable test to select women with normal cervical smears at risk for developing cervical lesions. *Diagn. Mol. Pathol.* 9: 145 – 50, 2000.
9. Cox, J. T.; et al. Human papilloma virus testing by hybrid capture appears to be useful in triaging women with a cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance. *Am Obstet Gynecol.* 172: 946-54, 1995.
10. David, A B. Molecular and morphologic method for human papillomavirus testing are available. The challenge, however, is to determine which offers better specificity and positive predictive value. *Advance for Administrators of the laboratory.* 5: 69, 2001.
11. Franco, E. L.; Duarte – Franco, E.; Ferenczy. Cervical câncer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ.* 164: 1017 -25, 2001.
12. Gross, G. E.; Barrasso, R. *Infecção por Papilomavírus Humano: Atlas clínico de HPV*. Porto Alegre: Artmed, 1999.
13. IPOG – Instituto de Pesquisa em Oncologia Ginecológica. Acesso: www.ipog.com.br/hpv.html. [17 mai. 2006].
14. Jacyntho, C.; Almeida – Filho, G.; Maldonado, P. *HPV – Infecção genital feminina e masculina*. Rio de Janeiro, Revinter, 1996.
15. Kjaer, S K; Van, Den Brule, A J C; et al. Human papillomavirus, the most significant risk determinant of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer.* 65: 601-6, 1996.
16. Nobbenhuis, M. A. E.; Walboomers, J. M. M.; Helmerhorst, T. J. M.; Meijer, C. J. L. M. et al. Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening : a prospective study. *Lancet.* 354: 20 – 25, 1999.
17. Silveira, G. P. G.; Pessini, S. A. *Câncer do colo uterino : lesões precursoras*. In: Halbe, H. W. *Tratado de ginecologia* 2 ed. São Paulo : Roca, v.2, 1994. 1800p.
18. Solomon, D; Schiffman, M; Tarone, R. Comparison of Three Management Strategies for Patients With Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance: Baseline Results From a Randomized Trial. *J Natl Cancer Inst.* 93: 293-99, 2001.
19. Rivoire, W; et al. Lesões de baixo e alto grau no colo uterino. In: Freitas F, cols. *Rotinas em ginecologia*, 4 ed. Porto Alegre: Artmed; 2001. p. 261-72.
20. Wallin, K L; Wiklund, F; et al. Type-Specific Persistence of Human Papillomavirus DNA before the development of Invasive Cervical Cancer. *NJEM.* 341: 1633-38, 1999.
21. Zeferino, L. C. Epidemiologia da neoplasia intra-epitelial cervical. *Ver. Ginecol. Obst.* 1 (1) : 22 – 32, 1990.
22. Zur hausen H. Papillomavirus infections – a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta.* 1288, p.55–78, 1996.
23. Portal da Saúde – Acesso: www.saude.gov.br. [17 mai. 2006].
24. Portal de ginecologia - Acesso: www.portaldeginecologia.com.br. [17 mai. 2006].
25. Bagarelli, L.B.; Oliani, A.H. Tipagem e estado físico de papilomavírus humano por hibridização in situ em lesões intraepiteliais do colo uterino. *Rev. Bras. Ginecol. Obst.*, v. 26, n. 1, 2004.
26. Castle, P.E.; Solomon, D.; Schiffman, M.; Wheeler, C. M. Human papillomavirus type 16 infections and 2-year absolute risk of cervical precancer in women with equivocal or mild cytologic abnormalities. *J. Natl. Cancer Inst.*, v. 97, p. 1066-1071, 2005.
27. Clifford, G. M.; Rana, R. K.; Franceschi, S.; Smith, J. S.; Gough, G.; Pimenta, J. M. Human papillomavirus genotype distribution in low-grade cervical lesions: comparison by geographic region and with cervical cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, v. 14, p. 1157-1164, 2005.
28. Hwang, H.S.; Park, M.; Lee, S. Y.; Kwon, K. H.; Pang, M. G. Distribution and prevalence of human papillomavirus genotypes in routine Pap smear of 2,470 Korean women determined by DNA chip. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, v. 13, p.2153-2156, 2004.
29. Rassa, M.; Bertolini, G.; Mengoli, C.; Peron, A.; Benedetti, P.; Palu, G. HPV genotype prevalence in cervical specimens with abnormal cytology: a report from north-east Italy. *Scand. J. Infect. Dis.*, v. 37, p. 476-481, 2005.
30. McCance, D. J. Human papillomaviruses and cervical cancer. *The Journal of Medical Microbiol.* Vol 47(5) May, 1998.
31. Cuzick, J.; Terry, G; Ho, L; Hollingworth, T & Anderson, M. Type-specific human papillomavirus DNA in abnormal smears as a predictor of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Br. J. Cancer.* 69, 167-171, 1994.
32. Dôres, G. B.; Taromaru, E. K.; Bonomi, C. G.; Filho, A. L.; Gilli, N. P.; Matubara, S.; Focchi, J. Determinação da Infecção do Papilomavírus Humano por Cptura Híbrida II: Correlação com achados morfológicos. *J. Brás. Doenças Sex. Transm.* v. 17, n. 4. p. 255-258, 2005.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Dr. Júlio Araújo Zampirolo
Av. César Seara, 84/ 101-BL-B
CEP. 88040-500 Florianópolis - SC
E-mail: zampirolo@hotmail.com

Sorologia para o vírus da Hepatite E em gestantes: clinicamente importante ou desnecessário?

Serology for Hepatitis E virus in pregnant women: clinically important or unnecessary?

Caio M. M. de Cordova, Solange L. Blatt, Tatiani K. R. Botelho & Eduardo M. Dalmarco

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi fazer avaliar a necessidade de se introduzir, na rotina de exames para gestantes atendidas no Ambulatório Universitário de Universidade Regional de Blumenau - FURB, a pesquisa de anticorpos para o vírus da hepatite E. Foram coletadas amostras de soro de 40 mulheres para este estudo, sendo 20 gestantes e 20 mulheres doadoras de sangue. A detecção dos anticorpos IgM e IgG anti-HEV foi feita por ELISA e foi realizada, também, a determinação da atividade sérica das enzimas AST, ALT, fosfatase alcalina (FA) e gama-GT. Avaliando a presença de anticorpos anti-HEV por ELISA, pode-se observar uma prevalência de 5% de anticorpos do tipo IgG no grupo de doadoras de sangue (Grupo A) e 10% de anticorpos do tipo IgM. No grupo de gestantes (Grupo B), observou-se uma prevalência de 0% de anticorpos do tipo IgG, e 5% de anticorpos do tipo IgM. Dentre as mulheres que apresentaram IgM anti-HEV, somente uma do Grupo A apresentou também anticorpos do tipo IgG. Não houve evidências de hepatite aguda devido à infecção pelo HEV. No presente estudo, foi possível demonstrar que o HEV está presente em nosso meio, mesmo em populações aparentemente saudáveis. Isto é extremamente preocupante, pois esta infecção pode ser excepcionalmente fatal em gestantes, principalmente no 3º trimestre de gravidez, e esta é uma doença ainda pouco conhecida pela maioria dos clínicos. Acreditamos ser de extrema importância a pesquisa de anticorpos anti-HEV como rotina no acompanhamento de gestantes, e que este trabalho seja aprofundado, investigando a incidência de complicações da gestação relacionadas à infecção pelo HEV.

PALAVRAS-CHAVE - hepatite E, HEV, sorologia, gestantes

SUMMARY - The aim of this work was to evaluate the need of introducing anti-HEV tests as part of the routine of management of pregnant women at the Ambulatório Universitário of the Universidade Regional de Blumenau - FURB. We have collected blood samples from 40 women for this study: 20 pregnant women, and 20 blood donor women. Detection of IgM and IgG anti-HEV antibodies was performed by ELISA, and we have also evaluated blood levels of AST, ALT, alkaline phosphatase and gamma-GT enzymes. Analyzing the positivity of anti-HEV antibodies by ELISA, observe a prevalence of 5% of IgG anti-HEV in the blood donors women group (Group A), and 10% of IgM anti-HEV. In the pregnant women group (Group B), observed an absence of IgG anti-HEV, and a prevalence of 5% of IgM anti-HEV. Among the women that presented IgM anti-HEV, only one from Group A concomitantly presented IgG anti-HEV. There was no evidence of acute hepatitis due to HEV infection. In the present study, it was possible to show that HEV is present in our environment, even in apparently healthy populations. This is extremely important, because this infection may be exceptionally lethal in pregnant women, mainly those infected in the 3rd trimester of pregnancy, and this is a disease still not very known by most clinicians. We believe that it is extremely important to perform anti-HEV antibodies tests as a routine for pregnant women management, and that this work has to be continued, investigating the incidence of pregnancy complications related to HEV infection.

KEYWORDS - hepatitis E, HEV, serology, pregnancy

INTRODUÇÃO

A Hepatite Viral é uma doença conhecida desde a época de Hipócrates, mas seus agentes etiológicos só foram identificados a partir da década de 1970 (Jamell *et al.*, 2002). Vários agentes podem causar hepatite, como o vírus Epstein-Barr, citomegalovírus, adenovírus, vírus da rubéola e da varicela, entre outros. Além disso, nem sempre as hepatites têm causa infecciosa, como por exemplo, as hepatites auto-imunes e as hepatites tóxicas, as medicamentosas, ou as causadas por abuso de álcool (Ferreira e Ávila, 2001). Entretanto, os principais vírus que causam hepatite compreendem seis diferentes agentes - vírus da Hepatite A (HAV), vírus da Hepatite B (HBV), vírus da Hepatite C (HCV), vírus da Hepatite D (HDV), vírus da Hepatite E (HEV) e vírus da Hepatite G (HGV). A infecção por esses vírus, que são hepatotrópicos, causa danos ao fígado como inflamação e necrose. Geralmente, os vírus da hepatite não são citolíticos; os hepatócitos acabam morrendo devido aos mecanismos de defesa do próprio hospedeiro (Jameel *et al.*, 2002). A hepatite E é causada pelo vírus HEV, constituído de RNA, de forma esférica e não envelopado, medindo entre 27 e 34 nm (Ferreira e Ávila, 2001). Foi classificado provisoriamente na família *Caliciviridae*, com o gênero *Calicivirus* (Aggarwal e Krawczynski, 2000). A infecção pelo HEV é transmitida via fecal-oral, sendo desta forma de evolução muito parecida com a hepatite causada pelo HAV. O período de incubação é de 2 a 9 semanas e a infecção não se torna crônica. A hepatite E normalmente é auto-limitada,

apresentando morbidade moderada. Entretanto, há inúmeros casos fatais descritos em gestantes, o que torna seu diagnóstico de grande importância em exames pré-natais (Ferreira e Ávila, 2001; Hussaini *et al.*, 1997). A infecção pelo HEV é relativamente pouco conhecida pelos clínicos, e a avaliação de sua prevalência nas diferentes populações, especialmente nas gestantes, pode ter um impacto importante nos serviços de saúde.

Detecta-se a viremia 22 dias após a infecção, antes do início da icterícia, durando até 30 dias. Os anticorpos anti-HEV IgM alcançam níveis altos nos primeiros 28 dias após do aparecimento dos sintomas, mas vão diminuindo depois da fase aguda da doença. Os anticorpos anti-HEV IgG alcançam níveis elevados na fase aguda, mas não se sabe quanto a duração destes após a convalescença (Nascimento e Moreira, 2001). Os sintomas clínicos da doença (período prodromico) são calafrios, dor abdominal no quadrante direito, náuseas e vômitos, febre e anorexia, que tendem a diminuir e desaparecer totalmente em uma semana (Aggarwal e Krawczynski, 2000). Em seguida, aparecem a icterícia, hipocolia fecal e colúria, que permanecem por uma semana, quando o paciente começa a melhorar, passando para o período de convalescença (Nascimento e Moreira, 2001). O HEV é excretado pelas fezes durante a semana anterior ao início do quadro prodromico, diminuindo consideravelmente sua eliminação fecal após a primeira semana de icterícia (Paraná e Schinoni, 2002). Pode ocorrer também a forma anictérica da doença, que é bastante frequente, sendo apenas confirmada a partir de exames laboratoriais.

Recebido em 03/07/2006
Aprovado em 15/08/2007

ais, e uma forma mais branda da doença, sendo esta assintomática e anictérica (Aggarwal e Krawczynski, 2000).

Observou-se que as taxas mais altas de infecção por HEV abrangem a população de adultos jovens, e estudos desenvolvidos no norte da Índia mostraram que as crianças passam a ser susceptíveis à infecção a partir de um ano de idade (Paraná e Schinoni, 2002; Trinta *et al.*, 2001). Vários estudos sorológicos relatam que em países desenvolvidos tem ocorrido um aumento do número de casos de hepatite E, dentre estes se encontram usuários de drogas injetáveis, hemofílicos, hemodialisados, receptores de transfusão sanguínea, homossexuais e pacientes com hepatite C crônica, demonstrando que o HEV hoje é uma preocupação mundial (Coppola e Zanetti, 1998; Trinta *et al.*, 2001).

No Brasil, os poucos estudos com grupos específicos (garimpeiros, mineiros, pacientes de hemodiálise, empregados de hospitais, entre outros) mostraram uma prevalência de 3-6%. A incidência de hepatite E no país varia muito de acordo com as regiões, prevalecendo no Norte, quando comparado às regiões Sul e Sudeste (Assis *et al.*, 2002). Atualmente, estudos de soroprevalência para HEV demonstraram que a América do Sul já possui caráter endêmico para esta virose (Paraná e Schinoni, 2002).

Estudos soroprevalência feitos em doadores de sangue têm mostrado prevalência variável de anticorpos anti-HEV: 1-3% na Europa e EUA, 6,8% na Espanha, 24,5% no Egito e até 70% na Tailândia. Na América do Sul há descrições de prevalência em algumas regiões isoladas, faltando estudos de soroprevalência mais abrangentes. Estudos realizados na Venezuela mostraram uma frequência de anti-HEV em gestantes de Caracas (1,6%), em populações rurais (3,9%) e em populações rurais de ameríndios (5,4%). No Brasil, observou-se positividade para anti-HEV na Bahia, São Paulo, Amazonas e entre garimpeiros do Mato Grosso (Ferreira e Ávila, 2001).

A taxa de mortalidade de hepatite E na população, em geral, é de 0,5%, comparada com a de 0,1% para hepatite A (Fricker, 1996), mas o maior risco ocorre com gestantes, onde a taxa de mortalidade pode chegar a 58% (Jia *et al.*, 2003). Mulheres grávidas, particularmente no segundo e terceiro trimestres de gestação, são mais freqüentemente infectadas nos surtos de hepatite E, e desenvolvem o pior quadro (Aggarwal e Krawczynski, 2000). A hepatite E evolui fulminantemente em 20% das gestantes no segundo e terceiro trimestre de gestação, tendendo a aumentar a taxa de mortalidade de acordo com a progressão da gravidez (Nascimento e Moreira, 2001). Se no pós-parto houver intensa hemorragia, problemas hepático e renal, a taxa de mortalidade pode chegar a 100%, para mãe e feto (Jia, 2003).

A disfunção hepática severa causada pelo HEV nas gestantes progride muito rapidamente para um quadro fulminante, pondo fim em duas vidas: da mãe e do feto (Hamid *et al.*, 1996). As taxas de falência hepática fulminante (FHF) gerada pelo HEV em gestantes portadoras de HEV são assustadoras. A partir do estudo feito por Khuroo e Kamili (2002), observa-se que cerca de 69,2% das gestantes portadoras de HEV analisadas desenvolveram FHF.

Ainda não se sabe o porquê da infecção por HEV ser mais severa em gestantes, mas suspeita-se de dois motivos ainda não comprovados: (a) que as gestantes contaminadas fazem uma dieta pobre em nutrientes, gerando uma diminuição da função imune, que já pode estar baixa por consequência da gravidez; (b) dependente da localização geográfica das gestantes, pela maioria se encontrar em áreas subdesenvolvidas, já que a susceptibilidade de hepatite fulminante não é observada em países desenvolvidos (Mechnik *et al.*, 2001).

Durante a fase aguda da doença não há particularidades clínicas que permitam diagnosticar a hepatite E sem sorologia específica (Paraná e Schinoni, 2002). Os exames laboratoriais incluem bilirrubinúria, análise dos níveis séricos de bilirrubinas, elevação sérica da AST, ALT, GGT, e da FA. Entre os diagnósticos sorológicos, utiliza-se o ELISA para pesquisa de anticorpos (Aggarwal e Krawczynski, 2000) ou, também, o Imunoblot, um teste mais específico que o ELISA, que pode até confirmar as reações falso-positivas deste (Paraná e Schinoni, 2002). A hepatite E também pode ser diagnosticada a partir da detecção de partículas virais nas fezes e na água por microscopia eletrônica e pelo método da reação em cadeia de polimerase - PCR (Orrú *et al.*, 2004; Grimm, 2002).

Existem contestações em relação à existência de imunidade prolongada nos casos de infecção pelo HEV; há evidências de que as concentrações de anticorpos diminuem gradativamente com o tempo, o que possibilita uma nova infecção após re-exposição ao vírus. Em contrapartida, outros autores têm demonstrado imunidade prolongada após infecção aguda, propondo a presença de memória imunológica (Paraná e Schinoni, 2002).

Não há tratamento específico para HEV (Skidmore, 1997). Quando não ocorre a forma fulminante, a doença evolui espontaneamente para a cura (Paraná e Schinoni, 2002). Como medidas paliativas, sugerem-se o repouso, dieta habitual e uso proibido de bebidas alcoólicas. Caso haja febre muito alta e vômitos (fase aguda), orienta-se o uso de anti-piréticos e antieméticos (Nascimento e Moreira, 2001). O uso de imunoglobulina hiperimune, extraída do soro de indivíduos oriundos de áreas endêmicas, parece ser importante na profilaxia ou no abrandamento da hepatite E, mas ainda não se obteve comprovação de sua eficácia (Paraná e Schinoni, 2002).

Um estudo de Arankalle *et al.* (1998), utilizando imunoglobulina indiana (ISG) na população de gestantes durante a epidemia de hepatite E em Karad (oeste da Índia) em 1993, mostrou que a ISG gera um efeito benéfico nas gestantes, diminuindo as chances de contaminação e suas consequências drásticas, se administrado com antecedência à epidemia e mostra também a necessidade de maiores estudos com imunoglobulinas anti-HEV.

Com o presente trabalho, nos propusemos a analisar a relevância da implantação do ELISA em exames pré-natais, para detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite E em gestantes. Alguns estudos já foram feitos no Brasil, mas somente em regiões que apresentam maiores índices de pobreza e precárias condições de vida, tais como Amazonas, Mato Grosso, Rio de Janeiro e São Paulo. Atualmente não se conhece a situação desta infecção em nossa população, e a avaliação de sua prevalência e sua eventual participação em complicações da gravidez podem determinar a necessidade da implantação da sorologia para HEV na rotina pré-natal em nossos laboratórios.

MATERIAL E MÉTODOS

Pacientes e amostras: foram obtidas amostras de sangue, após consentimento informado, de gestantes atendidas pelo serviço de ginecologia do Ambulatório Universitário da FURB, e de mulheres doadoras de sangue, atendidas no Centro de Hemocultura de Blumenau, no período de março a junho de 2004.

Grupos de pacientes: as pacientes foram agrupadas de acordo com o trimestre de gestação em que se encontravam no momento da coleta do sangue, para avaliação da sorologia.

prevalência do HEV. Foram obtidas de 20 pacientes em cada grupo de estudo, ou seja, 20 doadoras de sangue (Grupo A) e 20 gestantes (Grupo B), totalizando 40 amostras.

Preparo das amostras: as amostras de sangue foram obtidas por punção venosa com seringa, colocadas em tubos de ensaio e incubadas em banho-maria a 37°C por 15 minutos para coagulação. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 2.500 rpm por 5 minutos, e o soro foi separado e armazenado a -20°C, diluído em 50% de glicerina.

Deteção de anticorpos anti-HEV: A detecção de IgG e IgM anti-HEV no soro das pacientes foi feito por ELISA (método indireto), com um kit comercial, de acordo com as instruções do fabricante (Genelabs Diagnostics, Singapore).

Avaliação bioquímica da função hepática: foram feitas determinações das atividades de algumas enzimas séricas nas amostras, para identificação eventuais problemas hepáticos relacionados à soropositividade para HEV nas gestantes. As determinações foram feitas com o auxílio de um espectrofotômetro microprocessado (Biosystems). As enzimas analisadas foram Aspartato-aminotransferase (AST), Alanina-aminotransferase (ALT), Fosfatase alcalina (FA) e Gama-glutamilttransferase (GGT), com reagentes da marca Biosystems. Como soro controle, foi utilizado o Qualitrol 2 em cada bateria de testes (LabTest).

Análise estatística: Os resultados obtidos foram analisados pelo Teste de Mann-Whitney para avaliar os resultados da determinação da atividade das enzimas hepáticas nos dois grupos estudados, e pelo Teste de Fischer para avaliar a prevalência de anticorpos anti-HEV nos dois grupos (Vieira, 2003), com o auxílio do software GraphPad InStat™ (San Diego, CA, USA).

RESULTADOS

Avaliando os parâmetros bioquímicos nos grupos estudados, pudemos observar níveis médios de AST nas amostras de soro do grupo A (doadoras de sangue) de 35,1 +/- 9,9 U/L. No grupo B (gestantes), foram observados níveis de 30,5 +/- 17,4 para as gestantes no 1º trimestre, 16,8 +/- 5,1 para as gestantes no 2º trimestre, e 17,7 +/- 4,7 para as gestantes no 3º trimestre. Os níveis de AST foram ligeiramente mais altos no grupo A e nas gestantes do grupo B, do 1º trimestre de gravidez, em comparação com as gestantes do 2º e 3º trimestres. Por outro lado, os níveis de ALT não apresentaram diferença nos grupos estudados (19 +/- 7,5; 20,1 +/- 8,9; 12 +/- 5; e 9,3 +/- 5,8, respectivamente), assim como os níveis de GGT (20,4 +/- 12,1; 16,6 +/- 4,8; 9,5 +/- 2,9; e 11,3 +/- 4,9, respectivamente). Entretanto, analisando os níveis de FA, houve uma grande diferença entre as gestantes do 3º trimestre de gravidez (216,3 +/- 17,9), em comparação com as gestantes no 2º trimestre (82,8 +/- 38,2), do 1º trimestre (72,5 +/- 19,3) e as mulheres doadoras de sangue (71,7 +/- 12,9). Estes resultados estão graficamente representados na figura 1

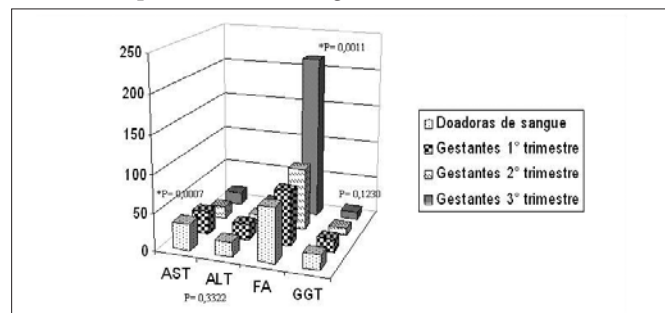


Figura 1. Representação gráfica dos níveis de ALT (U/L), ALT (U/L), ALT (U/L) e ALT (U/L) nos diferentes grupos de pacientes estudados.

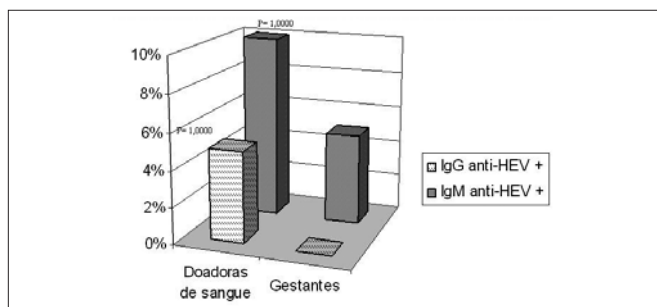


Figura 2. Representação gráfica da positividade de anticorpos anti-HEV nos grupos A (gestantes) e B (doadoras de sangue).

Avaliando a presença de anticorpos anti-HEV, encontramos uma positividade de 5% de IgG anti-HEV (1/20) e de 10% de IgM anti-HEV (2/20) no grupo de mulheres doadoras de sangue. No grupo de gestantes, encontramos uma positividade de 5% de IgM anti-HEV (1/20). Esta diferença não é significativa. Estes resultados estão graficamente representados na figura 2.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Como foi mencionado, as hepatites virais têm como órgão-alvo o fígado, apesar de frequentemente acarretarem problemas para outros órgãos. Dessa forma, torna-se necessário o uso de exames laboratoriais para um diagnóstico mais exato, quando suspeita-se de hepatite. Dentre eles, encontram-se as provas de função hepática, que estudam o aspecto anatômico do fígado, e não seu estado funcional, através da dosagem das enzimas hepáticas. Apesar das provas baseadas na dosagem das enzimas hepáticas séricas estudarem principalmente o aspecto estrutural do fígado, a comparação de seus resultados com os da clínica e com os resultados de outros testes mostra-lhes tal importância que permite inseri-las no grupo dos testes de função hepática (Lima *et al.*, 2001).

A AST sérica é uma enzima encontrada em vários órgãos e tecidos, tais como coração, fígado, músculo esquelético, etc. Há um grande grupo de doenças que causam a elevação dos níveis de AST, que são: hepatites virais, hepatopatia alcoólica, tumor hepático, citomegalovirus, fígado gorduroso, disfunção hepática induzida por drogas, entre outras. Analisando os resultados obtidos nas amostras de soro dos dois grupos estudados neste trabalho (figura 1), observou-se resultados mais altos de AST nas amostras do grupo de doadoras de sangue (Grupo A) em comparação com o grupo das gestantes no 2º e 3º trimestre de gravidez (Grupo B). Esta diferença é estatisticamente significativa ($P=0,007$), e poderia indicar a presença de mulheres com hepatite ativa, principalmente no Grupo A, que apresenta a maior prevalência de anticorpos anti-HEV do tipo IgM. Entretanto, os aumentos observados na atividade enzimática são pequenos, e nem todas as mulheres com níveis aumentados de AST apresentam também níveis aumentados de ALT.

A ALT sérica é uma enzima encontrada preferivelmente no fígado, mas também ocorre em quantidades menores nos rins, coração e musculatura esquelética. Somente 5% (01/20) das mulheres em cada grupo de pacientes apresentam aumento concomitante dos níveis de AST e de ALT. Entretanto, nenhuma delas tem sorologia positiva para HEV, portanto, esta ligeira alteração nos níveis séricos destas enzimas hepáticas deve ter outras causas, que não uma hepatite por HEV. Além disso, não há diferença significativa entre os níveis de ALT nos dois grupos ($P=0,3322$).

Da mesma forma, não há diferença significativa entre os níveis de GGT nos dois grupos estudados ($P= 0,1230$). Das duas doadoras de sangue que apresentam níveis aumentados de GGT, uma apresenta níveis aumentados de ALT e de AST, que pode de fato indicar a presença de um processo acometendo o fígado, como outro tipo de hepatite infecciosa, hepatite tóxica, alcoólica ou até medicamentosa. A GGT encontra-se predominantemente no fígado, e em menores concentrações nos rins, no intestino, no epitélio do trato biliar, no baço, no pâncreas, cérebro e coração. Indivíduos obesos também podem apresentar altos níveis de GGT, de até 50% maiores que o normal. Existem outras patologias que também afetam esses níveis, e são elas: hepatite viral aguda (elevação de 89-100%), tumor hepático, uso de fenobarbital, superdosagem de paracetamol, alcoolismo crônico, uso de fenitoína, inflamação aguda do trato biliar, infecção por CMV, entre outras. Geralmente, os níveis séricos de GGT não são afetados na gestação, mas deve-se levar em conta as fontes não-hepáticas da GGT.

Com relação aos níveis séricos de FA, de uma maneira geral, não se observa diferença significativa entre os dois grupos ($P= 0,5161$). Entretanto, analisando mais precisamente, os níveis de FA são significativamente mais altos nas amostras de sangue das mulheres do Grupo B que estão no terceiro trimestre de gestação, em comparação com o Grupo A ($P= 0,0011$), chegando a valores 2,5 vezes acima do valor de referência. Esta diferença não é observada comparando os resultados das mulheres que estão no segundo trimestre de gestação ($P= 0,9110$) ou no primeiro trimestre de gestação ($P= 0,8107$), em relação ao grupo A. Na gestação, os níveis de FA aumentam devido à produção de FA pela placenta, mas, para a maioria das mulheres, esse fator não é tão comum. Geralmente, esse aumento de FA inicia no final do primeiro trimestre de gestação, não devendo ser confundido com um aumento por acometimento hepático ou ósseo, e pode alcançar valores até 4 vezes o limite superior de referência no terceiro trimestre, desaparecendo em 3 a 6 dias após o parto. Alguns medicamentos, tais como a fenitoína, também podem causar um aumento dos níveis séricos de FA (Ravel, 1997). De fato, todas as mulheres com níveis aumentados de FA têm níveis normais de AST e ALT.

Avaliando a presença de anticorpos anti-HEV por ELISA, pode-se observar uma prevalência de 5% (1/20) de anticorpos do tipo IgG no grupo de doadoras de sangue (Grupo A), e 10% (2/20) de anticorpos do tipo IgM. No grupo de gestantes (Grupo B), observou-se uma prevalência de 0% de anticorpos do tipo IgG, e 5% (1/20) de anticorpos do tipo IgM. Esta gestante com IgG anti-HEV estava no 1º trimestre de gestação. A diferença de prevalência entre os dois grupos não é significativa, tanto para IgG quanto para IgM ($P= 1,000$). Das mulheres que apresentaram IgM anti-HEV, somente uma do Grupo A apresentou também anticorpos do tipo IgG. Estes dados são bastante interessantes, pois revelam uma prevalência semelhante nos dois grupos, e indicando que a infecção por HEV nestas mulheres é bastante recente, pela presença de IgM. Nenhuma das mulheres com anticorpo anti-HEV apresentava sinais de hepatite aguda pela análise dos níveis das enzimas hepáticas.

Estes resultados demonstram que o vírus da hepatite E está presente em nosso meio, podendo infectar pessoas aparentemente saudáveis, como as mulheres doadoras de sangue, possivelmente causando infecções assintomáticas ou subclínicas. Isto se torna especialmente preocupante, pois existe a possibilidade de uma gestante infectar-se com este vírus em nosso ambiente. Caso esta infecção ocorra no terceiro trimestre, como foi visto, o risco de haver sérias

complicações na gestação, até mesmo fatais, não pode ser negligenciado (Hussaini *et al.*, 1997).

No Brasil, estudos de soroprevalência com diferentes grupos apresentaram resultados de 2 a 4,2% em doadores de sangue, e de até 17,9% em mulheres fazendo triagem para infecção pelo HIV (Nascimento e Moreira, 2001). Os resultados deste trabalho apresentam valores semelhantes aos descritos por outros autores em doadoras de sangue, sendo até maiores na pesquisa de anticorpos do tipo IgM, o que não havia sido analisado anteriormente.

Como foi visto, a hepatite E é comumente transmitida por via fecal-oral, através do consumo de água contaminada, principalmente, alimentos contaminados, mas também pode ocorrer transmissão vertical, principalmente no final da gestação, e pessoa-pessoa (Worm, 2002). Surto podem ser observados em períodos de enchente, quando há contaminação da fonte de água da região, o que é bastante comum em nossa cidade, no verão, quando os níveis de água dos rios diminuem (Aggarwal e Krawczynski, 2000). Além disso, a falta de saneamento básico, que gera precárias condições de higiene para as populações, é um agravante para a transmissão de infecções via fecal oral. A falta de saneamento pode explicar de certa forma a prevalência de anticorpos anti-HEV em um dos grupos estudados, pois as gestantes atendidas do Ambulatório Universitário da FURB têm um nível socioeconômico mais baixo em comparação com as mulheres atendidas em clínicas particulares.

Assim, pela prevalência significativa de infecção por HEV em nossa população e pelas graves conseqüências que esta forma de hepatite pode ter na gravidez, acreditamos que este trabalho, que foi pioneiro na região, deva ser ampliado e aprofundado, para reforçar a importância de implantar a sorologia para HEV na rotina laboratorial da investigação de doenças infecciosas perigestacionais.

A imunização passiva contra HEV ainda não foi comprovada eficaz, mas estudos do genoma do HEV mostram que futuramente haverá uma vacina contra a hepatite E (Nascimento e Moreira, 2001). A necessidade do desenvolvimento de uma vacina contra HEV, em países desenvolvidos, está limitada aos viajantes para áreas endêmicas e, naturalmente, à gestantes; já em áreas endêmicas, onde a infecção é prevalente, a vacina é um importante recurso para as autoridades públicas da saúde, que podem implantar programas de vacinação rotineiros, a fim de imunizar a população de risco (Koff, 2003).

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Délson Morilo Longaro, Diretor do Centro Hemoterápico de Blumenau, pela gentileza em fornecer as amostras de mulheres doadoras de sangue, e ao Sr. Matthew Mak, da empresa Genelabs Diagnostics, pela gentileza do apoio à este projeto, fornecendo os kits de ELISA para IgG e IgM anti-HEV.

REFERÊNCIAS

1. Aggarwal, R.; Krawczynski, K. Hepatitis E: An overview and recent advances in clinical and laboratory research. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 15(1): 9-20, 2000.
2. Arankalle, V. A. et al. Role of immune serum globulins in pregnant women during an epidemic of hepatitis E. *Journal of Viral Hepatitis* 5(3): 199-204, 1998.
3. Assis, S.B. et al. Prevalência da infecção pelos vírus das hepatites A e E em escolares do município da Amazônia Matogrossense. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 35(2): 155-158, 2002.
4. Coppola, R. C.; Zanetti, A. R. Epidemiology and prevention of enterically

- transmitted hepatitis in Italy. Res. Virol. 149(5): 271-276, 1998.
5. Ferreira, A. W.; Ávila L. M. Diagnóstico laboratorial: avaliação de métodos de diagnóstico das principais doenças infecciosas e parasitárias e auto-imunes. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
 6. Fricker, J. Hepatitis E vaccine. Molecular Medicine Today. Cambridge, p. 137, apr. 1996.
 7. Grimm, A. C. Development of a molecular method to identify hepatitis E virus in water. Journal of Virological Methods 101(1-2): 175-188, 2002.
 8. Hamid, S. S. et al. Fulminant hepatic failure in pregnant women: acute fatty liver or acute viral hepatitis? Journal of Hepatology 25(1): 20-27, 1996.
 9. Hussaini, S. H. et al. Severe hepatitis E infection during pregnancy. Journal of Viral Hepatitis 4(1): 51-54, 1997.
 10. Jameel, S. Hepatitis viruses and the MAPK pathway: is this a survival strategy? Virus Res. 92(2): 131-140, 2003.
 11. Jia, Z. et al. Successful rescuing a pregnant woman with severe hepatitis E infection and postpartum massive hemorrhage. World J. Gastroenterol. 9(3): 631-632, 2003.
 12. Koff, R. S. Hepatitis vaccines: recent advances. International Journal for Parasitology 33(5-6): 517-523, 2003.
 13. Khuroo, M. S.; Kamili, S. Aetiology, clinical course and outcome of sporadic acute viral hepatitis in pregnancy. Journal of Viral Hepatitis 10(1): 61-69, 2003.
 14. Lima, A. O. et al. Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
 15. Mechnik, L. et al. Acute hepatitis E virus infection presenting as a prolonged cholestatic jaundice. J. Clin. Gastroenterol. 33(5): 421-422, 2001.
 16. Nascimento, A. S.; Moreira, R. C. Hepatite E: Atualização. Rev. Inst. Adolfo Lutz 60(1): 71-77, 2001.
 17. Orrú, G. Detection and quantitation of hepatitis E virus in human faeces by real-time quantitative PCR. Journal of Virological Methods 118(2): 77-82, 2004.
 18. Paraná, R.; Schinoni, M. I. Hepatite E. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 35(3): 247-253, 2002.
 19. Ravel, R. Laboratório clínico: aplicações clínicas dos dados laboratoriais. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
 20. Skidmore, S. J. Tropical aspects of viral hepatitis. Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 91(2): 125-126, 1997.
 21. Trinta, K. S. et al. Hepatitis E virus infection in selected Brazilian populations. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 96(1): 25-29, 2001.
 22. Vieira, S. Bioestatística – tópicos avançados. Rio de Janeiro: Campus, 2003.
 23. Worm, H. C. Hepatitis E: an overview. Microbes and Infection 4(6): 657-666, 2002.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Dr. Caio M. M. de Cordova
 FURB, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Campus III
 Rua São Paulo 2171 Bairro Itoupava Seca
 CEP 89030-000 Blumenau-SC, Brasi.
 E-mail: cmcordova@furb.br

IFCC WorldLab 2008

20th International Congress of Clinical Chemistry
 35^o Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
 8^o Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

28 de setembro a 02 de outubro 2008
 Fortaleza - CE - Brasil



*Sociedade
 Brasileira de
 Análises
 Clínicas*

A SBAC facilita para você ir ao maior congresso mundial de Análises Clínicas.

Promoção de Aniversário
 Inscrições a R\$ 400,00 até 31 de março.
 Corra e aproveite!

Maiores informações:
 21 2187-0800 - geral@sbac.org.br - www.sbac.org.br

PRÊMIO HOTSOFT INFORMÁTICA

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

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

II - DOS OBJETIVOS

O "Prêmio Hotsoft Informática" tem por objetivos;

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

III - DA PARTICIPAÇÃO

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

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

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

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

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

Rio de Janeiro, 30 de dezembro de 2004.

Dr. Ulisses Tuma
Presidente

Informações:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio Hotsoft Informática

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

Reação em cadeia da polimerase (PCR) no diagnóstico da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em camundongos*

Polymerase chain reaction (PCR) for *Trypanosoma cruzi* infection diagnosis in mice*

Cláudia T. Miyamoto¹; Mônica L. Gomes¹; Aline V. Marangon¹; Silvana M. Araújo¹; Ana Paula T. Liberati¹; Rafael Ferreira P. Cabral¹; Maria Terezinha Bahia²; Marta de Lana³ & Max Jean O. Toledo¹

RESUMO - O objetivo do estudo foi avaliar o desempenho da reação em cadeia da polimerase (PCR) para detectar o DNA de *Trypanosoma cruzi* no sangue de camundongos infectados com clones do protozoário pertencentes aos genótipos 19, 20 (*T. cruzi* I), 39 e 32 (*T. cruzi* II), comparando-o com o exame de sangue a fresco (ESF), a hemocultura (HC) e o teste imunoenzimático (ELISA). Foram analisadas amostras de sangue de camundongos BALB/c experimentalmente infectados com 20 clones. A positividade da PCR foi significativamente superior à das demais técnicas estudadas e a seguinte ordem de positividade foi observada: PCR (100,00%) > ELISA (94,44%) > HC (78,86%) > ESF (73,28%). Ao contrário da ELISA, HC e ESF, a positividade da PCR não variou de acordo com o genótipo. Esses dados mostram o potencial da técnica da PCR para o diagnóstico da doença de Chagas.

PALAVRAS-CHAVE - *Trypanosoma cruzi*; camundongos; genótipos; reação em cadeia da polimerase (PCR); exame de sangue a fresco (ESF); hemocultura (HC); teste imunoenzimático (ELISA).

SUMMARY - The goal of this work was evaluate the polymerase chain reaction (PCR) for detecting *Trypanosoma cruzi* DNA in the blood of mice infected with cloned stocks belonging to the major genotypes 19, 20 (*T. cruzi* I), 39 and 32 (*T. cruzi* II), comparing the PCR results with flesh blood examination (FBE), hemoculture (HC) and enzymatic immunoassay (ELISA). Blood samples from BALB/c mice experimentally infected with 20 *T. cruzi* cloned stocks were analyzed. The PCR positivity was significantly higher than that of the others techniques and the following order of positivity was observed: PCR (100.00%) > ELISA (94.44%) > HC (78.86%) > FBE (73.28%). In contrast to FBE, HC and ELISA, the positivity of PCR did not vary according to genotype. These data demonstrate the potential of the PCR technique for the diagnosis of Chagas' disease.

KEYWORDS - *Trypanosoma cruzi*; mice; genotypes; polymerase chain reaction (PCR); flesh blood examination (ESF); hemoculture (HC); enzymatic immunoassay (ELISA).

INTRODUÇÃO

A doença de Chagas ainda constitui uma das mais importantes endemias do Brasil e da América Latina. Estima-se que haja 15 milhões de pessoas infectadas e outros 40 milhões sob risco de adquirir a infecção no continente americano (Vinhais e Schofield, 2003).

Diversos métodos são utilizados para o diagnóstico laboratorial da doença de Chagas, entre eles os métodos parasitológicos diretos e indiretos que demonstram a presença do agente etiológico *Trypanosoma cruzi*, os métodos sorológicos que detectam anticorpos contra o parasito e os métodos moleculares que pesquisam seu DNA. No entanto, o diagnóstico da doença de Chagas humana não é completamente satisfatório, já que esses métodos podem apresentar resultados inconclusivos ou discordantes, como observado por diferentes autores (Grijalva *et al.*, 1995; Gomes *et al.*, 1999). Embora testes parasitológicos indiretos (hemocultura e xenodiagnóstico) sejam de alta especificidade, possuem baixa sensibilidade (Junqueira *et al.*, 1996). Em contraposição, os testes sorológicos têm alta sensibilidade, porém a especificidade pode não ser muito elevada devido a reações cruzadas com outros parasitos, tais como *Leishmania* sp e *Trypanosoma rangeli* (Saldana e Souza, 1996).

A reação em cadeia da polimerase (PCR), técnica que amplifica um segmento específico de DNA do parasito pela produção de milhões de cópias daquele fragmento, vem sendo utilizada por alguns laboratórios especializados na detecção de *T. cruzi* no sangue de pacientes com sorologia positiva ou duvidosa para doença de Chagas, com o objetivo de avaliar o seu potencial no diagnóstico da infecção humana (Ávila *et al.*, 1993; Gomes *et al.*, 1998).

No final da década de 90, com a utilização de diferentes

métodos de tipagem molecular, foram descritas duas linhagens genéticas, ou grupos genéticos, principais de *T. cruzi*: o *T. cruzi* I, mais associado ao ciclo de transmissão silvestre, e o *T. cruzi* II encontrado mais frequentemente no ambiente doméstico (Tibayrenc, 1995; Souto *et al.*, 1996; Anonymous, 1999). Os genótipos 19 e 20 descritos anteriormente por Tibayrenc (1995) pertencem ao grupo *T. cruzi* I e os genótipos 39 e 32 ao grupo *T. cruzi* II. Uma vez que os clones de *T. cruzi* pertencentes a um determinado genótipo comportam-se de forma diferente de clones de outros genótipos com relação ao parasitismo sanguíneo e tecidual na infecção experimental, avaliar a sensibilidade da PCR para detectar o *T. cruzi* no sangue de camundongos infectados com diferentes grupos genéticos do parasito pode fornecer subsídios importantes para o diagnóstico da doença de Chagas humana.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho da PCR para detectar o DNA de *T. cruzi* no sangue de camundongos infectados com parasitos pertencentes aos genótipos 19, 20 (*T. cruzi* I), 39 e 32 (*T. cruzi* II), comparando-a com o exame de sangue a fresco, a hemocultura e o teste imunoenzimático (ELISA).

MATERIAIS E MÉTODOS

Infecção dos animais

As amostras de sangue testadas foram obtidas de camundongos BALB/c experimentalmente infectados com 20 clones de *T. cruzi* pertencentes aos quatro genótipos principais 19, 20, 39 e 32, ubíquos e isolados de diferentes hospedeiros e áreas eco-geográficas da América Latina (Tibayrenc e Ayala, 1988). Foram utilizados cinco clones pertencentes a cada genótipo (Quadro 1).

Recebido em 12/07/2006

Aprovado em 14/08/2007

*Departamento de Análises Clínicas, Laboratório de Doença de Chagas, Bloco I-90, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, C.P. 331, Maringá, Paraná, Brasil; ²Departamento de Ciências Biológicas, Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Campus Universitário Morro do Cruzeiro, Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), 35400-000, Ouro Preto, Minas Gerais (MG), Brasil; ³Departamento de Análises Clínicas, Escola de Farmácia, UFOP, Rua Costa Sena, 171, 35400-000, Ouro Preto, MG, Brasil.

Grupo de	Genótipos	Clones	Hospedeiros	País	Região
<i>T. cruzi</i> *					
I	19	SP10 4 cl 1	<i>Triatoma spinolai</i>	Chile	Choquimbo
I		Cutia cl 1	<i>Dasyprocta agudi</i>	Brasil	Espirito Santo
I		Gambá cl 1	<i>Didelphis azarae</i>	Brasil	São Paulo
I		13379 cl 7	Homem, fase aguda	Bolívia	Santa Cruz
I		OPS21 cl 11	Homem, fase aguda	Venezuela	Cojedes
I	20	SO3 4 cl 4	<i>Triatoma infestans</i>	Bolívia	Potosi
I		Cuica cl 1	<i>Opossum cuica philander</i>	Brasil	São Paulo
I		P209 cl 1	Homem, fase crônica	Bolívia	Sucre
I		Esquilo cl 1	<i>Sciurus aestuans ingramini</i>	Brasil	São Paulo
I		P11 cl 3	Homem, fase crônica	Bolívia	Cochabamba
II	39	SC43 cl 1	<i>Triatoma infestans</i>	Bolívia	Santa Cruz
II		Bug21 48 cl 1	<i>Triatoma infestans</i>	Brasil	Rio Grande do Sul
II		Bug21 49 cl 10	<i>Triatoma infestans</i>	Brasil	Rio Grande do Sul
II		SO3 cl 5	<i>Triatoma infestans</i>	Bolívia	Potosi
II		MN cl 2	Homem, fase crônica	Chile	Santiago
II	32	MAS cl 1	Homem, fase crônica	Brasil	Brasília
II		CBB cl 3	Homem, fase crônica	Chile	Tulahuén
II		Tu 18 cl 2	<i>Triatoma infestans</i>	Bolívia	Tupiza
II		IVV cl 4	Homem, fase crônica	Chile	Santiago
II		MVB cl 8	Homem, fase crônica	Chile	Santiago

* Anonymous, 1999.

Quadro 1: Hospedeiros e origem geográfica dos 20 clones de *Trypanosoma cruzi* pertencentes aos clones principais (genótipos) ubíquos 19, 20, 39 e 32.

Cada clone foi inoculado em grupos de 10 camundongos BALB/c, fêmeas e com 18g de peso, por via intra-peritoneal, com um inóculo padrão de 10.000 tripomastigotas sanguíneas/animal (Brener, 1962).

Exame de sangue a fresco (ESF)

Cinco microlitros de sangue coletado da veia caudal foram examinados ao microscópio, entre lâmina e lamínula, diariamente, por um período de até 90 dias após infecção (d.a.i), para detecção de tripomastigotas circulantes. Foram considerados positivos no ESF os animais que apresentaram o parasito em pelo menos uma amostra de sangue. Foi examinado por esta técnica um total de 131 camundongos.

Hemocultura (HC)

Foi realizada segundo a técnica de Filardi e Brener (1987). Cerca de 0,4 mL de sangue coletado assepticamente do seio venoso retro-orbital de camundongos foi distribuído em dois tubos, cada um com 3 mL de meio LIT. As HCs foram realizadas 60 e 140 d.a.i., ou seja, durante as fases aguda e crônica da infecção experimental, respectivamente. Os tubos eram incubados a 28°C e examinados com 30, 45, 60 e 90 dias para a pesquisa das formas parasitárias. Foi submetido a este teste um total de 123 animais.

Teste imunoenzimático (ELISA)

Foi utilizada a metodologia de Voller *et al.* (1980) modificada. Foi utilizado antígeno alcalino obtido de cultura em meio LIT na fase exponencial de crescimento (Victor e Chiari, 1987), da cepa Y, a qual é classificada como *T. cruzi* II (Fernandes e Campbell, 2000) e conjugado anti-IgG de camundongo marcado com peroxidase (Sigma). Foram utilizadas amostras de soro obtidas a partir do sangue coletado do seio venoso retro-orbital no 120° d.a.i e no 290° d.a.i, diluídas a 1:40 em PBS. Os soros de camundongos com valores de absorvância inferior ao discriminante (média dos valores de

dez soros controle negativos somadas ao valor de duas vezes o desvio padrão) foram considerados negativos. Foi examinado por esta técnica um total de 108 camundongos.

Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A PCR foi processada segundo protocolo de Gomes *et al.* (1998). Todas as etapas foram realizadas em ambientes separados, utilizando reagentes, materiais e equipamentos exclusivos de cada local de trabalho. Foram utilizados os iniciadores 121 (5'AAATAATGTACGGG(T/G)GAGATG-CATGA3') e 122 (5'GGTTCGATTGGGGTTGGTGTAAATA-3') descritos por Wincker *et al.* (1994), que amplificam um fragmento de 330 pares de base (pb). À mistura de reação foram acrescentados 30 µL de óleo mineral e aplicados 35 ciclos de amplificação em um termociclador (MJ Research, PTC-150). As condições da reação foram: desnaturação do DNA a 95°C por 1 minuto (com etapa inicial mais longa por 5 minutos), anelamento dos iniciadores a 65°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto (com etapa final de 10 minutos). Como controle positivo da PCR foi utilizado 10 pg de DNA da cepa PR-379 de *T. cruzi* e como controle negativo (branco) todos os reagentes da reação sem DNA.

Obtenção das amostras para PCR: Duzentos microlitros de sangue de cada animal foram coletados do plexo retro-orbital. A eles foi acrescentado o dobro de volume de Guanidina/EDTA 6,0M/0,2M (G/E 6,0M/0,2M). A mistura foi conservada à temperatura ambiente (Ávila *et al.*, 1991). Uma semana após a coleta, o lisado foi fervido por 7 minutos e também mantido à temperatura ambiente. Os mesmos 131 camundongos submetidos ao ESF foram também analisados pela PCR e as amostras de sangue coletadas no 60° e 140° d.a.i..

Extração de DNA: De cada amostra foi retirada uma alíquota de 100µL e a extração foi realizada segundo o protocolo de Wincker *et al.* (1994), com algumas modificações introduzidas por Gomes *et al.* (1998). Durante esta etapa, para cada grupo de quatro amostras, foram acrescentados um controle negativo (sangue de camundongo não infectado) e um controle positivo (DNA de sangue de camundongo infectado com a cepa Y de *T. cruzi*).

Eletroforese e revelação dos produtos: O DNA amplificado pela PCR foi visualizado por eletroforese em gel de poli-acrilamida a 4,5% revelado pela prata (Santos *et al.*, 1993). Foi utilizado padrão de peso molecular DNA Ladder de 100pb. Amostras de camundongos que apresentaram a banda de 330 pb no gel foram consideradas PCR positivas.

Análise estatística

Os resultados da PCR obtidos para cada animal foram comparados com os resultados do ESF, da HC e da ELISA. Foi utilizado o teste Q de Cochran para comparar a positividade das diferentes técnicas utilizadas. Para comparação da positividade entre os genótipos foi utilizado o teste do qui-quadrado (χ^2). Foi utilizado o software Statistica versão 6.0 (StatSoft, Inc., 2001).

RESULTADOS

A positividade geral da PCR (100%) foi significativamente superior à da ELISA (94,44%) que, por sua vez, foi maior que a da HC (78,86%) que foi maior que a positividade do ESF (73,28%) (Tabela 1).

A maior variação de positividade ocorreu com o ESF: de 56,66%, para camundongos inoculados com clones pertencentes ao genótipo 32, a 90,24%, para aqueles inoculados com clones do genótipo 20 (Tabela 1). Em relação à HC, a positividade variou de 60,60% a 90,24%, para camundon-

gos inoculados com os genótipos 39 e 20, respectivamente. A positividade da ELISA variou de 86,36%, para camundongos inoculados com clones pertencentes ao genótipo 32, a 100%, para os camundongos inoculados com os genótipos 19 e 20 (Tabela 1).

TABELA I

Resultados da reação em cadeia da polimerase (PCR), exame de sangue a fresco (ESF), hemocultura (HC) e teste imunoenzimático (ELISA) em amostras de sangue de camundongos BALB/c infectados com clones de *Trypanosoma cruzi* pertencentes aos genótipos 19, 20, 39 e 32.

Genótipo de <i>T. cruzi</i>	N° ESF + (%)	N° HC + (%)	N° ELISA + (%)	N° PCR + (%)
19	19/25 (76,00)	17/19 (89,47)	20/20 (100,00)	25/25 (100,00)
20	37/41 (90,24)	37/41 (90,24)	39/39 (100,00)	41/41 (100,00)
39	23/35 (65,71)	20/33 (60,60)	24/27 (88,88)	35/35 (100,00)
32	17/30 (56,66)	23/30 (76,66)	19/22 (86,36)	30/30 (100,00)
Total	96/131 (73,28)	97/123 (78,86)	102/108 (94,44)	131/131(100,00)

N° PCR, ESF, HC e ELISA+ = número de camundongos positivos sobre o total analisado.

A positividade da PCR foi a mesma (100%) para camundongos infectados com os diferentes genótipos (Tabela 1). Não foram observadas diferenças significativas, na positividade da HC e da PCR, entre as fases aguda (60 d.a.i.) e crônica (140 d.a.i.) da infecção. Da mesma forma, a positividade da ELISA não variou entre as fases aguda e crônica da infecção (dados não mostrados).

A tabela 2 apresenta as comparações estatísticas, dentro de cada genótipo, entre as técnicas realizadas. Foi verificada que em camundongos infectados com clones do genótipo 19 a positividade da PCR foi igual à da ELISA que, por sua vez, foi maior que a da HC que foi maior que a do ESF ($p < 0,01$). Na comparação dois a dois, essas diferenças foram significativas apenas entre PCR e ESF ($p < 0,05$).

Nos animais infectados com o genótipo 20, a positividade da PCR também foi igual à da ELISA que foi maior que a da HC que foi igual a do ESF ($p < 0,05$). Essas diferenças foram significativas entre PCR e HC e PCR e ESF ($p < 0,05$) (Tabela 2). Nos animais infectados com os genótipos 39 e 32, a positividade da PCR foi maior que a da ELISA, HC e ESF ($p < 0,01$). Essas diferenças foram significativas entre PCR e HC ($p < 0,05$) e PCR e ESF ($p < 0,05$) para o genótipo 39 e entre PCR e HC ($p < 0,01$) e PCR e ESF ($p < 0,001$) para o genótipo 32 (Tabela 2).

TABELA I

Comparações estatísticas entre a positividade da reação em cadeia da polimerase (PCR) e das demais técnicas utilizadas no diagnóstico de camundongos experimentalmente infectados com clones de *Trypanosoma cruzi* pertencentes aos genótipos 19, 20, 39 e 32.

Genótipo	PCR X ESF	PCR X HC	PCR X ELISA
19	< 0,05	NS	NS
20	< 0,05	< 0,05	NS
39	< 0,05	< 0,05	NS
32	< 0,001	< 0,01	NS

Teste Q de Cochran NS (diferença não significativa)
 $p < 0,05$, $p < 0,01$ ou $p < 0,001$ (diferença significativa)
 ESF: exame de sangue a fresco; HC: hemocultura; ELISA: teste imunoenzimático.

Existe atualmente um arsenal de técnicas laboratoriais para o diagnóstico da doença de Chagas humana. No entanto, poucos trabalhos sobre seu diagnóstico levaram em consideração a diversidade genética do agente etiológico *T. cruzi* que está infectando o hospedeiro. Várias publicações recentes têm demonstrado associação estatística entre divergência filogenética e propriedades biológicas dos genótipos de *T. cruzi* (Revollo *et al.*, 1998; Toledo *et al.*, 2002 e 2003).

Quando se pretende incluir uma nova técnica de diagnóstico na rotina de Análises Clínicas, deve-se ainda observar sua eficácia quanto à sensibilidade e especificidade, sendo que a mesma deve ser preferencialmente de baixo custo, baixa complexidade e deve despende o mínimo de tempo para se alcançar o resultado desejado (Marcon *et al.*, 2002). Técnicas como ESF e HC baseiam-se na pesquisa, respectivamente, direta e indireta do parasito no sangue de indivíduos infectados e são uma necessidade premente para a confirmação diagnóstica da infecção chagásica. No entanto, apresentam baixa sensibilidade e, no caso da HC, além de ser laboriosa, consome períodos longos de até 120 dias (Castro *et al.*, 2002).

Em relação à técnica de ELISA, resultados contraditórios têm sido observados por vários laboratórios (Guastini *et al.*, 1995; Salles *et al.*, 1996). A razão para esses resultados discrepantes parece estar relacionada com a complexidade antigênica do *T. cruzi* e a heterogeneidade das populações do parasito (Andrade, 1985). Esse fato aponta a necessidade de padronização de procedimentos e de reagentes moleculares bem definidos.

No presente trabalho, para a realização do teste de ELISA, foi utilizado antígeno de *T. cruzi* II (cepa Y) e, ao contrário do que se esperava, foi observada maior positividade do teste nos animais infectados com genótipos de *T. cruzi* I. Este resultado pode ser explicado em parte pelo fato dos animais infectados com clones pertencentes aos genótipos 39 e 32 (*T. cruzi* II) apresentarem parasitemias significativamente mais baixas (Toledo *et al.*, 2002) levando a uma menor produção de anticorpos. Uma maior suscetibilidade à resposta imune apresentada por clones do grupo genético 39, inferida a partir da baixa positividade na hemocultura, já foi demonstrada por Lana *et al.* (2000). Da mesma forma, foi constatado que camundongos infectados com o genótipo 32 apresentaram produção de anticorpos relativamente menor, o que levou a uma baixa positividade nos testes sorológicos (Toledo, 2001).

Apesar de a PCR ainda ser uma metodologia relativamente cara, sua alta capacidade de detecção de DNA de *T. cruzi* no sangue de camundongos foi comprovada no presente estudo, em outros modelos experimentais, como o cão (Araújo *et al.*, 2002), e também no sangue de humanos (Ávila *et al.*, 1993; Britto *et al.*, 1995; Castro *et al.*, 2002; Gomes *et al.*, 1998). Estes resultados credenciam seu uso como teste confirmatório em bancos de sangue, nos candidatos a doadores com resultado sorológico duvidoso ou positivo e também no monitoramento de pacientes e animais tratados etiológicamente.

Os resultados obtidos para a PCR por vários autores (Gomes *et al.*, 1998; Marcon *et al.*, 2002; Castro *et al.*, 2002) mostraram uma variação de 44,7 a 100% de positividade em pacientes chagásicos. A alta sensibilidade da PCR em camundongos infectados com *T. cruzi* obtida no estudo atual contrasta com os resultados de outra publicação com o mesmo modelo animal em que se obteve sensibilidade

bem inferior (40%) (Camandaroba *et al.*, 2003). A diferença de resultados se deve aos diferentes protocolos utilizados. No trabalho atual os produtos amplificados foram visualizados em gel de poliacrilamida, de acordo com o protocolo de Gomes *et al.* (1998) embora a eletroforese em gel agarose corado com brometo de etídio seja a comumente usada para detectar DNA de *T. cruzi* (Miyamoto *et al.*, 2006). Embora esse estudo tenha sido realizado em modelo experimental animal, os resultados mostram o potencial da técnica de PCR no diagnóstico dos diferentes grupos genéticos de *T. cruzi*. Devido a sua alta sensibilidade e especificidade em relação aos demais testes utilizados no diagnóstico laboratorial da doença de Chagas, é importante a inclusão dessa metodologia como método confirmatório em pacientes com provas sorológicas duvidosas.

AGRADECIMENTOS

Ao Michel Tibayrenc do Centre d'Études sur le Polymorphisme des Microorganismes do Institute de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier, France, pela concessão dos clones de *Trypanosoma cruzi*.

REFERÊNCIAS

- Andrade SG. Morphological and behavioural characterization of *Trypanosoma cruzi* strains. *Rev Soc Bras Med Trop*, 18:39-46, 1985.
- Anonymous International Symposium to commemorate the 90th anniversary of the discovery of Chagas disease. Recommendations from a Satellite Meeting, Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 (Suppl. I), p. 429-432. 1999.
- Araújo FMG., Bahia MT., Magalhães NM., Martins-Filho OA., Veloso VM., Carneiro CM., Tafuri WL., Lana M. Follow-up of experimental chronic Chagas' disease in dogs: use of polymerase chain reaction (PCR) compared with parasitological and serological methods. *Acta Trop*, 81: 21-31, 2002.
- Ávila HA, Pereira JB, Thiemann O, Paiva E, Degraive W, Morel CM, Simpson L. Detection of *Trypanosoma cruzi* in blood specimens of chronic chagasic patients by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA: comparison with serology and xenodiagnosis. *J Clin Microbiol*, 31: 2421-2426, 1993.
- Ávila HA, Sigman D, Cohen L, Millikan R, Simpson L. Polymerase chain reaction of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast minicircle DNA isolated from whole blood lysate: diagnosis of chronic Chagas' disease. *Mol Biochem Parasitol*, 48: 211-222, 1991.
- Brener Z. Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Rev Inst Med Trop*, 4: 389-396, 1962.
- Britto C, Cardoso MA, Vanni C, Hasslocker-Moreno A, Xavier S, Oelemann W, Santoro A, Pimez C, Morel CM, Wincker P. Polymerase chain reaction detection of *Trypanosoma cruzi* in human blood samples as a tool for diagnosis and treatment evolution. *Parasitology*, 110, 241-247, 1995.
- Camandaroba ELP, Reis EAG, Gonçalves MS, Reis MG, Andrade SG. *Trypanosoma cruzi*: susceptibility to chemotherapy with benznidazole of clones isolated from the highly resistant Colombian strain. *Rev Soc Bras Med Trop*, 36(2): 201-209, 2003.
- Castro AM, Luquetti AO, Rassi A, Rassi GG, Chiari E, Galvão LM. Blood culture and polymerase chain reaction for the diagnosis of the chronic phase of human infection with *Trypanosoma cruzi*. *Parasitol Res*, 88(10): 894-900, 2002.
- Fernandes O, Campbell DA. *Trypanosoma cruzi*: cepas de eleição. In: Araújo-Jorge, T.C., Castro, S.L. (Eds.), *Doença de Chagas: manual para experimentação animal*. Ed. Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 178-181, 2000.
- Filardi LS, Brener Z. Susceptibility and natural resistance of *Trypanosoma cruzi* strains to drugs used clinically in Chagas disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 81: 755-759, 1987.
- Gomes ML, Galvão LMC, Macedo AM, Pena SDJ, Chiari E. Comparative analysis among parasitologic, molecular and serologic tests in chronic Chagas disease diagnosis. *Am J Trop Med Hyg*, 60 (2): 205-210, 1999.
- Gomes ML, Macedo AM, Vago R, Pena SDJ, Galvão LMC, Chiari E. *Trypanosoma cruzi*: optimization of polymerase chain reaction for detection in human blood. *Exp Parasitol*, 88: 28-33, 1998.
- Grijalva MT, Rowland EC, Powell MR, McCormick TS, Escalante L. Blood donors in a vector-free zone of Ecuador potentially infected with *Trypanosoma cruzi*. *Am J Trop Med Hyg*, 52: 360-363, 1995.
- Guastini CMF, Sartori AMC, Lopes MH, Ianni BM, Salles N, Amato-Neto V, Shikanai-Yasuda MA. Reações sorológicas inconclusivas para doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop*, 28 (sup1):125, 1995.
- Junqueira ACV, Chiari E, Wincker P. Comparison of polymerase chain reaction with two classical parasitological methods for diagnosis of Chagas disease patients in a northeastern endemic region of Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 90, 129-132. 1996.
- Lana M, Pinto AS, Bastrenta B, Barnabe C, Noel S, Tibayrenc M. *Trypanosoma cruzi*: Infectivity of clonal genotypes infections in acute and chronic phases in mice. *Exp Parasitol*, 96, 61-66. 2000.
- Marcon GE, Andrade PD, De Albuquerque DM, Wanderley JDAS, De Almeida EA, Guariento ME, Costa SC. Use of a nested polymerase chain reaction (N-PCR) to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients and patients with doubtful serologies. *Diagn Microbiol Infect Dis* 43 (1), 39-43. 2002.
- Miyamoto CT, Gomes ML, Marangon AV, Araújo SM, Bahia MT, Lana M, Toledo MJO. *Trypanosoma cruzi*: Sensitivity of the polymerase chain reaction for detecting the parasite in the blood of mice infected with different clonal genotypes. *Exp Parasitol*, 112, 198-201. 2006.
- Revollo S, Oury B, Laurent JP, Barnabé C, Quesney V, Carrière V, Noël S, Tibayrenc M. *Trypanosoma cruzi*: impact of clonal evolution of the parasite on its biological and medical properties. *Exp Parasitol*, 89, 30-39. 1998.
- Saldana A, Souza OE. *Trypanosoma rangeli*: epimastigote immunogenicity and cross-reaction with *Trypanosoma cruzi*. *J Parasitol*, 82, 363-366. 1996.
- Salles NA, Sabino EC, Cliquet MG, Eluf-Neto J, Mayer A, Almeida-Neto C, Mendonca MC, Dorliach-Llacer P, Chamone DF, Saez-Alquezar A. Risk of exposure to Chagas disease among seroreactive Brazilian blood donors. *Transfusion*, 33: 969-973. 1996.
- Santos FR, Pena SDJ, Epplen JT. Genetic and population study of a Y-linked tetranucleotide repeat DNA polymorphism with a simple non-isotopic technique. *Hum Genet*, 90, 655-656. 1993.
- Souto RP, Fernandes O, Macedo AM, Campbell DA, Zingales B. 1996. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol*, 83, 141-152.
- Tibayrenc M. Population genetics of parasitic protozoa and other microorganisms. *Adv Parasitol*, 36, 47-115. 1995.
- Tibayrenc M, Ayala FJ. Isozyme variability in *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas' disease: genetical, taxonomical, and epidemiological significance. *Evolution*, 42, 277-292. 1988.
- Toledo MJO, Lana M, Carneiro CM, Bahia M T, Machado-Coelho GLL, Veloso V M, Barnabé C, Tibayrenc M, Tafuri WL. Impact of *Trypanosoma cruzi* clonal evolution on its biological properties in mice. *Exp Parasitol*, 100, 161-172. 2002
- Toledo MJO. Comportamento biológico em camundongos de clones de *Trypanosoma cruzi* pertencentes a diferentes genótipos. Tese de doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais – Belo Horizonte, MG, Brasil. 2001.
- Toledo MJO, Bahia MT, Carneiro CM, Martins-Filho OA, Tibayrenc M, Barnabé C, Tafuri WL, Lana M. Chemotherapy with Benznidazole and Itraconazole for Mice infected with different *Trypanosoma cruzi* Clonal Genotypes. *Antimicrob Agents Chemother*, Washington USA, 47, n. 1, p. 223-230, 2003.
- Víctor R, Chiari E. Avaliação de antígenos de *Trypanosoma cruzi* para reação de hemaglutinação indireta em diferentes extratos antigênicos. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 29, 6531-6535. 1987.
- Vinhais MC, Schofield CJ. *Trypanosomiasis* control: surmounting diminishing returns. *Trends Parasitol*, 19, 112-113. 2003.
- Voller A, Bidwell D, Bartlett A. Enzyme linked immunosorbent assay. In: Rose, N.R., Friedman, R. (Eds.), *Manual of Clinical Immunology*. Ed. American Society for Microbiology, USA, pp. 359-371. 1980.
- Wincker P, Britto C, Pereira JB, Cardoso MA, Oelemann W, Morel CM. Use of a simplified polymerase chain reaction procedure to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples patients in a rural endemic area. *Am J Trop Med Hyg*, 51, 771-777. 1994.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Max Jean O. Toledo

Fone: 44-3261 4877; Fax: 44-32614490.

E-mail: mjotoledo@uem.br

Avaliação do nível sérico de antígeno prostático específico (PSA) em pacientes da cidade de Campo Mourão-PR

Evaluation of the serum level of prostate-specific antigen (PSA) in patients from the city of Campo Mourão - PR

Thessa Nogueira Gonçalves & Sidney Edson Mella Junior

RESUMO - (Objetivo) O Antígeno Prostático Específico (PSA) é considerado o mais importante marcador para detectar, estagiar e monitorizar o câncer de próstata. Assim, realizou-se este estudo com objetivo de avaliar os níveis séricos de PSA em pacientes usuários de um laboratório de análises clínicas da cidade de Campo Mourão, correlacionando com os valores de referência e idade. (Métodos) Foram analisados os resultados dos exames de PSA de 437 pacientes usuários de um laboratório de análises clínicas privado, correspondendo à totalidade dos exames realizados no período de julho a dezembro de 2005. (Resultados) Em relação aos valores de PSA, 388 pacientes (88,8%) apresentaram valores de PSA entre 0 – 4,0 ng/mL, 34 pacientes (7,8%) valores entre 4,1 – 10,0 ng/mL, 10 pacientes (2,3%) valores entre 10,1 – 20,0ng/mL e 5 pacientes (1,1%) portavam valores de PSA > 20ng/mL. A idade dos pacientes variou entre 27 a 91 anos (média de 56 anos). (Conclusão) Através dos achados do presente estudo, observa-se que o nível médio de PSA aumenta de acordo com a idade. Desta forma, torna-se importante, a utilização do PSA em associação com outros métodos diagnósticos na detecção precoce de patologias malignas da próstata.

PALAVRAS-CHAVE - Câncer de próstata. Antígeno prostático específico. Idade. Prevalência. Diagnóstico.

SUMMARY - (Objective) The prostate-specific antigen (PSA) is considered the most important marker to detect, classify and monitorize the prostate cancer. Thus, it was accomplished this study with the objective of evaluate the serum levels of PSA in patients users of a laboratory for clinical analysis in the city of Campo Mourão, making the correlation to reference values and age. (Methods) It was analysed the results of the exams performed within july and december of 2005. (Results) Related to the PSA values, 388 patients (88,8%) presented values of PSA between 0-4ng/mL, 34 patients (7,8%) values between 4,1-10,0ng/mL, 10 patients (2,3%) values between 10,1-20,0ng/mL and 5 patients (1,1%) presented PSA values of 20ng/mL. The age of the patients ranged between 27 to 91 years old (average of 56 years old). (Conclusion) As a result of the present study, it's clear that the mean level of PSA increase according to the age. Thus, it's relevant the use of PSA associated with other methods of diagnosis in the early diagnosis of malign pathology of prostate.

KEYWORDS - Prostate cancer. Prostate-specific antigen. Age. Prevalence. Diagnosis.

INTRODUÇÃO

O câncer de próstata é a doença maligna mais comum do homem nos Estados Unidos e a segunda causa mais comum de morte por câncer³. No Brasil, segundo dados oficiais fornecidos pelo Instituto Nacional do Câncer – INCA, o número de casos novos de câncer de próstata estimados para 2006 foi de 47.280. Estes valores correspondem a um risco estimado de 51 casos novos a cada 100.000 homens, ficando o câncer de próstata em segundo lugar após o câncer de pele não melanoma, cuja incidência é de 61 casos novos a cada 100.000 homens. Representa 15,3% de todos os casos incidentes de câncer em países desenvolvidos e 4,3% dos casos em países em desenvolvimento⁸. A taxa de mortalidade bruta vem apresentando um ritmo de crescimento acentuado passando de 3,73/100.000 homens em 1979 para 8,93/100.000 homens em 1999, o que representa uma variação percentual relativa de 139%⁷.

A idade é um marcador de risco importante uma vez que tanto a incidência quanto a mortalidade aumentam exponencialmente após 50 anos⁷. É considerado um câncer da terceira idade, uma vez que cerca de 75% dos casos no mundo ocorrem a partir dos 65 anos⁸. Parece existir uma contribuição hereditária para o aparecimento da doença, na medida em que indivíduos cujos pais ou irmãos tenham tido câncer de próstata apresentam risco maior de desenvolver a doença¹⁷.

A incidência e a taxa de mortalidade são maiores em negros do que em brancos norte-americanos e vem aumentando com o decorrer do tempo. No Brasil, o carcinoma clínico da próstata também é mais comum em indivíduos negros ou pardos².

Dietas ricas em gordura, sobretudo as gorduras saturadas (origem animal), e dietas ricas em carne podem “facilitar” o surgimento do câncer de próstata. O licopeno, em consumo regular e freqüente de tomates, o selênio e a vitamina E podem “dificultar” o surgimento deste câncer¹⁷.

O câncer de próstata é uma patologia que pode ser detectada precocemente através de métodos diagnósticos de triagem. Especula-se que o aumento da incidência seja parcialmente devido a uma melhor identificação de casos subclínicos, facilitada pela expansão do uso do teste de antígeno prostático específico (PSA)¹³ entre os homens acima dos 50 a 60 anos de idade.

O PSA é uma protease da família da calicreína, produzida pelo epitélio da próstata, cuja função é solubilizar o esperma após a ejaculação. Eleva-se frequentemente na hiperplasia benigna, na prostatite e, principalmente, com altos níveis séricos nos portadores do carcinoma da próstata¹. O nível mais aceito como limite superior da normalidade para o PSA é de 4ng/ml¹⁴.

De acordo com a Sociedade Americana de Cancerologia, para a detecção precoce do câncer em indivíduos sem sintomas preconiza-se o toque retal e o PSA sérico anuais a partir de 50 anos de idade e com expectativa de vida de pelo menos 10 anos e a partir dos 45 anos em homens pertencentes a grupos de risco¹⁶. A combinação dos níveis séricos de PSA com o toque retal é a maneira mais eficaz de identificação da existência de carcinoma prostático nos pacientes⁶. Estes exames, além do baixo custo, possuem boa sensibilidade e especificidade. Estudos recentes sugerem que a triagem de homens em idade acima de 50 anos através

do toque retal e do PSA diminui a incidência de doença tardia com influência nas taxas de mortalidade, na medida em que o câncer de próstata pode ser curável, desde que diagnosticado precocemente¹³.

O uso do PSA para detectar câncer de próstata é uma prática mundial. Recentemente estudos epidemiológicos mostraram uma diminuição na mortalidade por esta doença de mais de 20%, onde o PSA foi rotineiramente dosado¹². O PSA é de grande utilidade clínica, pois serve para detecção precoce do carcinoma prostático, estadiamento da neoplasia, avaliação prognóstica e monitorização da resposta terapêutica². Desta forma, o PSA é considerado o mais importante marcador para detectar, estagiar e monitorizar o câncer de próstata³.

Atualmente é atribuído ao PSA o índice recorde do câncer interno mais diagnosticado no homem e que identifica mais de 80% dos novos casos de doença localizada¹. Com o objetivo de avaliar os níveis séricos de antígeno prostático específico em pacientes usuários de um laboratório de análises clínicas da cidade de Campo Mourão, correlacionando com os valores de referência e idade, foi realizado o presente estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste estudo, foram analisados os resultados dos exames de PSA de 437 pacientes usuários de um laboratório de análises clínicas privado, correspondendo à totalidade dos exames realizados no período de julho a dezembro de 2005. A dosagem do PSA foi realizada pela técnica de quimioluminescência, utilizando-se o aparelho Immulite® (Diagnostic Products Corporation – Los Angeles), com resultados em ng/mL. O laboratório possui controle de qualidade interno e externo, sendo integrante do Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ), da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC).

Para a obtenção dos dados foi utilizado o programa Hot Soft - Sistema Lab Plus de Gerenciamento para Laboratório. Os dados foram compilados no programa Microsoft Excel for Windows e os resultados estratificados através do programa SPSS 12.0 for Windows.

RESULTADOS

Após a análise dos resultados, procedeu-se a distribuição dos pacientes correlacionando a faixa etária e os níveis séricos de PSA (Tabela 1).

TABELA I
Correlação entre níveis séricos de PSA e faixa etária dos pacientes.

Faixa Etária	PSA 0 – 4,0	PSA 4,1 – 10,0	PSA 10,1 – 20,0	PSA > 20,0
≤ 30	3	0	0	0
31 – 40	27	0	0	0
41 – 50	121	1	2	0
51 – 60	109	11	3	0
61 – 70	82	13	1	0
> 70	46	9	4	5

Em relação aos valores de PSA, 388 pacientes (88,8%) apresentaram valores de antígeno prostático específico entre 0 – 4,0 ng/mL, 34 pacientes (7,8%) valores entre 4,1 – 10,0 ng/mL, 10 pacientes (2,3%) valores entre 10,1 – 20,0ng/mL e 5 pacientes (1,1%) portavam valores de PSA >20ng/mL. Os valores extremos de PSA foram <0,003ng/mL (limite inferior de detecção do método) e >20,0ng/mL (limite superior). A média de 2,08 ng/mL. Os resultados estão apresentados na Figura 1.

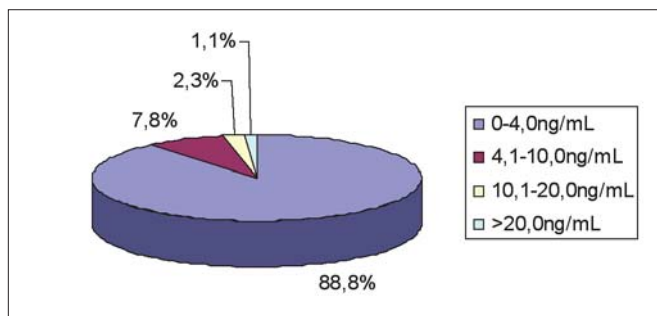


Figura 1 – Distribuição dos valores de PSA na população estudada

A idade dos pacientes variou entre 27 a 91 anos (média de 56 anos). As faixas etárias dos pacientes e sua relação com os níveis de PSA (superior ou inferior a 4ng/mL) encontram-se na Figura 2. As médias do PSA em relação as faixas etárias dos pacientes estão representadas na Figura 3.

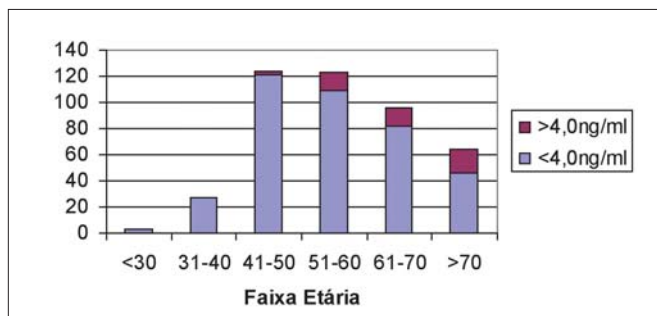


Figura 2 - Correlação entre faixa etária e níveis de PSA (maior ou menor que 4,0ng/mL) na população estudada

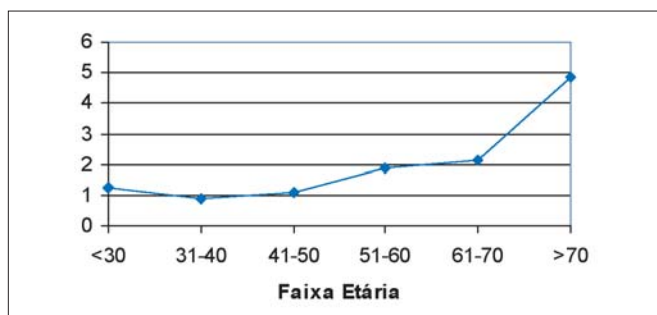


Figura 3 – Correlação entre faixa etária e média dos níveis de PSA

DISCUSSÃO

No Brasil, de acordo com informações do Ministério da Saúde em 2005, há aproximadamente 23 milhões de homens entre 40 e 79 anos de idade. Entre estes homens, e se nós aplicarmos as estatísticas mundiais para o nosso país, aproximadamente 92% dos homens tem PSA < 4ng/mL. Dos 8% de indivíduos com PSA > 4, nós encontraremos 25% ou 500.000 homens com câncer de próstata⁵.

REFERÊNCIAS

Realizar a triagem do PSA em homens jovens pode ajudar a estratificar o risco de uma eventual detecção de câncer de próstata. Através da identificação de homens mais jovens com risco de câncer de próstata, torna possível o uso de estratégias mais preventivas e efetivas na patogênese, para assegurar diagnóstico precoce e permitir um tratamento no tempo correto⁹. Estudos demonstraram que o PSA pré-operatório pode prever a existência de doença extraprostática (invasão tumoral da gordura periprostática e/ou invasão de colo vesical e/ou invasão das vesículas seminais e/ou linfonodos pélvicos positivos)³.

O nível médio de antígeno prostático específico para homens saudáveis com idades entre 40 e 49 anos tem sido relatado como ser de 0,6 a 0,83 ng/mL e 0,7 a 1,23ng/mL para homens com idade de 50 a 59⁹.

Aproximadamente 30% dos pacientes com PSA entre 4 – 10ng/mL contém adenocarcinoma de próstata enquanto 20% dos tumores ocorrem em pacientes com PSA < 4ng/mL. O exame digital retal não revela suspeita de carcinoma de próstata em 96% dos pacientes com PSA entre 2,5 – 4ng/mL¹⁰. Para aumentar as possibilidades reais de cura é indicado a biópsia da próstata em homens com PSA entre 2,5 – 4,0 ng/mL⁴.

A incidência de câncer de próstata é altamente superior quando pacientes com exame digital retal normal são selecionados para biópsia da próstata devido a níveis de PSA acima de 4 ou PSA livre e total (F/T PSA) menor que 15% ou velocidade do PSA maior que 25% ao ano ou alto valor de PSA por idade, quando observado exclusivamente por níveis de PSA sérico¹². O uso da proporção de F/T PSA entre homens com níveis de PSA entre 2 e 10ng/mL pode reduzir o número de biópsias desnecessárias enquanto mantém alta taxa de detecção do câncer¹⁵. Tumores não palpáveis apresentam maiores chances de cura quando o PSA é inferior a 4 ng/mL⁵.

O volume da próstata afeta a sensibilidade e especificidade do PSA. A especificidade do PSA é maior a um nível de redução de 4ng/mL do que a 2,5ng/mL. No entanto, este ponto de redução está associado a uma sensibilidade mais baixa levando a um diagnóstico errado de 14,5% de neoplasias¹¹. Através dos achados do presente estudo, fica claro que o nível médio de antígeno prostático específico aumenta de acordo com a idade. A análise revelou que os pacientes com até 40 anos apresentaram somente valores de PSA entre 0 - 4ng/mL ,apresentaram valores acima de 4ng/ml somente os pacientes acima de 41 anos de idade e apenas os pacientes com idade acima de 70 anos apresentaram PSA >20ng/mL. Uma correta interpretação deste exame, com a utilização de outros métodos diagnósticos paralelos, torna-se importante para o correto diagnóstico das patologias malignas da próstata, pois altos níveis de PSA em pacientes jovens podem indicar precocemente estas condições.

1. ARRUDA, H. O. et al. PSA e medidas antropométricas em índios da Amazônia: avaliação da comunidade Parkatejê. *Rev. Saúde Pública*; 37(5): 624-628, 2003.
2. BOGLIOLO Patologia. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
3. CALVETE, A. C. et al. Avaliação da extensão da neoplasia em câncer da próstata: valor do PSA, da porcentagem de fragmentos positivos e da escala de Gleason. *Rev. Assoc. Med. Bras.*; 49(3): 250-254, 2003.
4. DALL'OGGIO, M. F. et al. Survival of patients with prostate cancer and normal PSA levels treated by radical prostatectomy. *Int. Braz. J. Urol.*; 31(3): 222-227, 2005.
5. DALL'OGGIO, M. F. et al. Serum PSA and cure perspective for prostate cancer in males with nonpalpable tumor. *Int. Braz. J. Urol.*; 31(5): 437-444, 2005.
6. HENRY, J. B., BIANCO, A. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 19 ed. São Paulo: Manole, 1999.
7. INCA. Instituto Nacional do Câncer. Câncer da Próstata: consenso. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 2002.
8. INCA. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2006: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 2005.
9. LOEB, S. et al. Baseline prostate-specific antigen compared with median prostate-specific antigen for age group as predictor of prostate cancer risk in men younger than 60 years old. *Urology*; 67(2): 316-320, 2006.
10. MARTINS, A. C. P. et al. Free PSA and prostate volume on the diagnosis of prostate carcinoma. *Acta Cir. Bras.*; 18(5):22-24, 2003.
11. MARTINS, A. C. P. et al. Performance of PSA and of PSA density in the diagnosis of prostate carcinoma. *Acta Cir. Bras.*; 17(3): 07-11, 2002.
12. MIOTTO JR, A. et al. Value of various PSA parameters for diagnosing prostate cancer in men with normal digital rectal examination. *Int. Braz. J. Urol.*; 30(2): 109-113, 2004.
13. MIRANDA, P. S. C. et al. Práticas de diagnóstico precoce de câncer de próstata entre professores da faculdade de medicina – UFMG. *Rev. Assoc. Med. Bras.*; 50(3): 272-275, 2004.
14. PASCHOALIN, E. L. et al. Rastreamento do adenocarcinoma prostático em voluntários de uma região da Bahia: resultados preliminares. *Acta Cir. Bras.*; 16(1): 57-60, 2001.
15. RODDAM, A. W. et al. Use of prostate-specific antigen (PSA) isoforms for the detection of prostate cancer in men with a PSA level of 2-10ng/ml: systematic review and meta-analysis. *European Urology*; 48: 386-399, 2005.
16. SMITH, R. A., COKKINIDES, V., EYRE, H. J. American Cancer Society Guidelines for the early detection of cancer, 2006. *CA Cancer J. Clin.*; 56: 11-25, 2006.
17. WAITZBERG, D. L. Dieta, nutrição e câncer. São Paulo: Atheneu, 2004.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Dra Thessa Nogueira Gonçalves

Av. Manoel Mendes de Camargo, 971/204

CEP. 87302-080 Campo Mourão - PR

Influência do Uso Continuado de Fluoxetina nas Dosagens Séricas de Prolactina em Mulheres*

Influence of the Continuous Use of Fluoxetine in the Measurement of Serum Prolactin in Women*

Carlos Eduardo Leite¹, Fernanda B Nunes², Melissa G S Pires³, Adroaldo Lunardelli⁴, Francisco R Lhullier⁵, Maclóvia R Martins⁶ & Jarbas R de Oliveira⁷

RESUMO - A importância da dosagem de prolactina reside principalmente no fato de sua utilização diagnóstica em alterações da hipófise anterior. Alguns medicamentos, como a fluoxetina, podem alterar a secreção da prolactina. Assim, o foco deste trabalho foi o de avaliar a real importância de se considerar o uso da fluoxetina, um inibidor seletivo da recaptação da serotonina (ISRS), como um interferente na interpretação dos valores de dosagens laboratoriais da prolactina em mulheres. Foram analisados dados de 95 mulheres, com idade entre 15 e 70 anos, que realizaram dosagens séricas de prolactina. As mulheres em tratamento com a fluoxetina apresentaram um aumento significativo de prolactina. Este aumento foi maior em mulheres com até 29 anos, onde chegou a níveis considerados patológicos, diminuindo de uma maneira inversamente proporcional com o aumento da faixa etária. Acima dos 45 anos, onde a maioria das mulheres encontra-se na menopausa, os valores de prolactina não se alteram com o uso da fluoxetina.

PALAVRAS-CHAVE - Prolactina, fluoxetina, ISRS, menopausa.

SUMMARY - The importance of the prolactin dosage is mainly in its diagnostic use in alterations of the previous hypophysis. Some drugs, as the fluoxetine, can alter the secretion of the prolactin. Thus, the focus of this work was evaluating to real importance of considering the use of the fluoxetine, a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), as an interferential in the interpretation of the values of laboratory dosages of the prolactin in women. Ninety five women's data were analyzed, with age among 15 and 70 years, that accomplished dosages of the serum prolactin. There are significant increases of prolactin in women in treatment with the fluoxetine. This increase was larger in women with up to 29 years, that arrived at levels considered pathological, decreasing inversely proportional with the increase of the age group. Above the 45 years, where most of the women are in the menopause, the prolactin values don't change with the use of the fluoxetine.

KEYWORDS - Prolactin, fluoxetine, SSRI, menopause.

INTRODUÇÃO

Os hormônios peptídicos da hipófise anterior são essenciais para a regulação do crescimento, reprodução e o metabolismo. Sua síntese e secreção são controladas por hormônios de origem hipotalâmica, hormônios das glândulas endócrinas periféricas, doenças e muitos fármacos. A compreensão dessas interações são valiosas no diagnóstico e no tratamento dos distúrbios endócrinos e na previsão de alguns dos efeitos colaterais dos fármacos que afetam este sistema (Ascoli, 1996).

A prolactina é uma proteína da família de hormônios somatotrópicos (Ascoli, 1996) constituída por 199 aminoácidos e três pontes bissulfídicas (Fuchs, 1998). É liberada por células especializadas da hipófise anterior, os lactotrófos (Freeman, 2000; Peterson, 2001). Existem várias formas estruturais de sua molécula, mas a forma biologicamente ativa e responsável pela sua ação é a forma monomérica (*small*). As formas de prolactina de maior peso molecular representam dímeros, polímeros, agregados e espécies ligadas a proteínas (Biller, 1998; Frohman, 1995). Para contornar a interferência destas prolactinas de maior peso molecular nas dosagens, utilizam-se técnicas de precipitação com polietilenoglicol - PEG (Theunissen, 2005; Silva e Lhullier, 2005).

A prolactina tem importante papel na estimulação da produção de leite durante a fase pós-parto. A sua secreção fisiológica normal é estimulada principalmente pela gravidez, amamentação e manipulação das mamas, sono e estresse (Freeman, 2000).

A prolactina aumentada (hiperprolactinemia) pode ser indício de algum problema. Entre as causas mais frequentes dessa elevação estão o hipotireoidismo, o uso de medica-

mentos, ovário policístico, estresse, cirrose e tumores de hipófise (Arias Cáu, 2003; Freeman, 2000).

O excesso de prolactina frequentemente está associado ao hipogonadismo e/ou galactorrêia. Dentre as mulheres com amenorréia, 10% a 40% apresentam hiperprolactinemia, enquanto cerca de 30% das mulheres com amenorréia e galactorrêia são portadoras de tumores hipofisários secretores de prolactina (Biller, 1998). A hiperprolactinemia pode causar menstruações irregulares ou infertilidade (Oliveira, 2000; Ciccarelli, 2005).

Aumento nos níveis de prolactina ocorre com o uso de um grande número de medicamentos utilizados no tratamento de doenças psiquiátricas (Garthwaite, 1979; Freeman, 2000). A fluoxetina, que é um dos medicamentos responsáveis por este aumento (Meltzer, 1997), foi introduzida no uso clínico para o tratamento de pacientes com depressão em 1988. Desde lá, tem se tornado o medicamento antidepressivo mais prescrito no mundo (Rossi, 2004; Storustovu, 2004). É efetiva em todos os graus de depressão e é claramente melhor tolerada (possui um perfil de efeitos adversos mais brandos) e confiável que outros medicamentos antidepressivos.

A fluoxetina é um inibidor seletivo da recaptação da serotonina, tendo pouco efeito sobre outros neurotransmissores. É bem absorvida após administração oral, com pico plasmático 6 a 8 horas após administração. Possui meia-vida de 1 a 4 dias, no entanto, o metabólito ativo norfluoxetina tem meia-vida de 7 a 10 dias. Esta longa meia-vida parece proteger contra os efeitos adversos da retirada do medicamento (Rossi, 2004).

O uso de fluoxetina parece aumentar a liberação da prolactina, sendo um medicamento com potencial de interferir no diagnóstico laboratorial da hiperprolactinemia. Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar a significân-

Recebido em 02/10/2006

Aprovado em 03/09/2007

*Laboratório de Biofísica Celular e Inflamação, Departamento de Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

¹Farmacêutico Bioquímico, Laboratório de Biofísica Celular e Inflamação, PUCRS. ²Doutora em Medicina, Professora das Disciplinas de Biofísica e Anatomia Humana, PUCRS. ³Doutora em Medicina, Professora da Disciplina de Biofísica, PUCRS. ⁴Mestre em Biologia Celular e Molecular, Farmacêutico Bioquímico do setor de Imunologia do Hospital São Lucas, PUCRS. ⁵Doutor em Bioquímica, Professor da Disciplina de Bioquímica Clínica, PUCRS. ⁶Farmacêutica Bioquímica, Especialista em Análises Clínicas, PUCRS. ⁷Doutor em Bioquímica, Professor das Disciplinas de Biofísica e Bioquímica Clínica, PUCRS.

cia de se considerar o uso da fluoxetina como um interferente na interpretação dos valores de dosagens laboratoriais da prolactina em mulheres.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisados dados de 95 mulheres, clientes do Laboratório Exame de Novo Hamburgo (RS), com idade entre 15 e 70 anos, que realizaram dosagens séricas de prolactina. Estas pacientes foram divididas primariamente em dois grupos: grupo fluoxetina (n=28) que fazia uso do medicamento por um período não inferior a 30 dias, e grupo controle (n=67) que não fazia uso de fluoxetina. Estes pacientes foram agrupados em três intervalos de faixas etárias: pacientes com idade até 29 anos (n=26: n_{controle}= 18, n_{fluoxetina}= 8), de 30 a 45 (n=47: n_{controle}= 36, n_{fluoxetina}= 11) e acima de 45 anos (n=22: n_{controle}= 8, n_{fluoxetina}= 14). Devido aos resultados encontrados os pacientes foram agrupados também, em dois outros grupos: um grupo de pessoas que de acordo com a entrevista se encontrava na menopausa (n=22: n_{controle}= 8, n_{fluoxetina}= 14) e um grupo na menacme (n=73: n_{controle}= 59, n_{fluoxetina}= 14).

Em virtude das variações que este hormônio experimenta, foram usados os seguintes critérios para exclusão de amostras: ingestão de medicamentos antieméticos, antihipertensivos, antihistamínicos, hormônios (hormônio liberador da tirotrófina - TRH, estrogênio), psicotrópicos e antidepressivos, bem como certas patologias como a cirrose, insuficiência renal crônica, prolactinomas e hipotireoidismo.

As amostras foram coletadas conforme orientações do laboratório, observando as seguintes normas: jejum de 8 horas; coleta somente 2 horas após despertar, pela manhã; repouso do paciente por 15 minutos antes do início da coleta; coleta de 3 amostras com intervalos de 15 minutos entre cada uma (pool) e a não realização da coleta após exercícios físicos, relações sexuais e amamentação. As coletas foram realizadas por punção venosa e neste momento as pacientes responderam a uma entrevista envolvendo caracteres clínicos e farmacológicos.

As dosagens séricas foram realizadas por análise imunoradiométrica (IRMA), na Leitora GAMA C12 DPC® com o KIT para dosagem de prolactina IRMA - DPC®.

Os resultados foram submetidos à análise estatística de variância através do método ANOVA com post hoc de LSD usando o software SPSS (Statistical Package for the Social Science) 12.0 e são expressos por média ± desvio padrão da média (DP). O nível de significância foi definido com P<0,05.

RESULTADOS

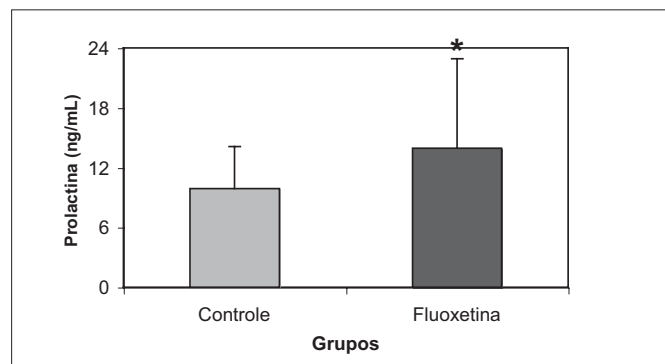


Figura 1-Níveis de prolactina em mulheres com e sem o uso de fluoxetina. Resultados expressos em média ± DP. * P<0,05 em relação ao grupo controle.

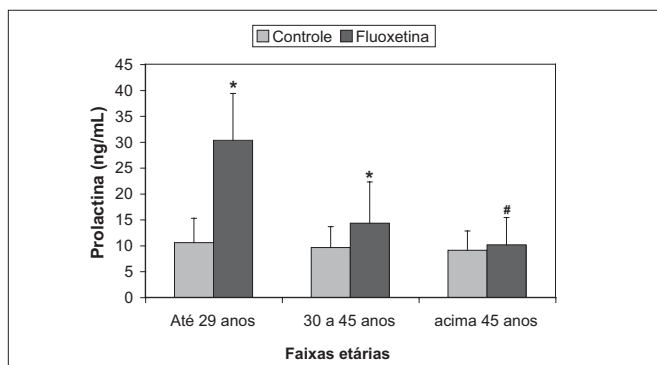


Figura 2 - Níveis de prolactina em mulheres, com e sem o uso da fluoxetina em diferentes faixas etárias. Resultados expressos em média ± DP. * P<0,05 em relação ao grupo controle. # P<0,05 em relação ao grupo fluoxetina de mulheres com até 29 anos e de 30 a 45 anos.

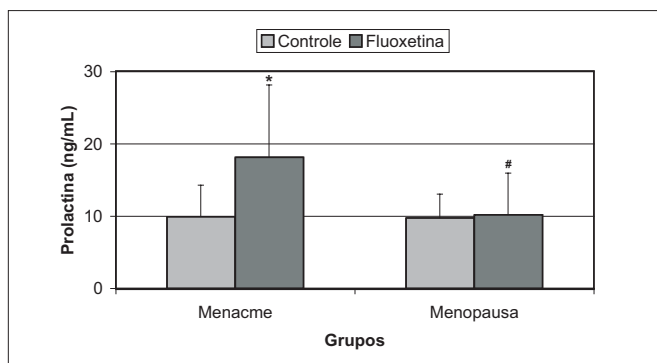


Figura 3 - Níveis de prolactina em mulheres, com e sem o uso da fluoxetina, que encontram-se na menacme e na menopausa. Resultados expressos em média ± DP. * P<0,05 em relação ao grupo controle. # P<0,05 em relação ao grupo fluoxetina na menacme.

O grupo de mulheres que fazia uso da fluoxetina apresentou dosagem sérica de prolactina (13,94 ± 8,97 ng/mL) mais elevadas do que o grupo controle (9,89 ± 4,2 ng/mL). Dados mostrados na figura 1.

No grupo onde dividimos as faixas etárias (figura 2), as mulheres com idade até 29 anos que fazia uso de fluoxetina apresentou valores de prolactina (30,30 ± 9,07 ng/mL) elevados em relação ao grupo da mesma faixa etária e que não fazia uso do medicamento (10,57 ± 4,7 ng/mL). Da mesma forma, no grupo de mulheres com idade de 30 a 45 anos que fazia uso de fluoxetina apresentou valores de prolactina (14,30 ± 7,98 ng/mL) elevados em relação ao grupo da mesma faixa etária e que não fazia uso do mesmo (9,60 ± 4,04 ng/mL). Já no grupo de pacientes com idades acima de 45 anos não foram encontradas diferenças entre o grupo que fazia uso da fluoxetina (10,12 ± 5,29 ng/mL) e o grupo que não a utilizava (9,10 ± 3,69 ng/mL). O grupo de idades acima de 45 anos que fazia uso de fluoxetina apresenta valores menores do que os apresentados pelas outras faixas etárias que faziam uso do medicamento, equiparando-se aos valores dos controles.

Os pacientes que se encontravam na menacme e não faziam uso de fluoxetina apresentaram valores de prolactina (9,91 ± 4,34 ng/mL) diminuídos em relação aqueles que administravam a fluoxetina (18,16 ± 9,95 ng/mL). Já aqueles pacientes que estavam na menopausa não apresentaram diferença nos valores de prolactina quando tratados com a fluoxetina. Apresentando valores de prolactina de 9,76 ± 3,26 ng/mL no grupo controle e 10,17 ± 5,74 ng/mL (figura 3).

DISCUSSÃO

A elevação do nível de prolactina é secundária a alterações nos mecanismos de controle neuroendócrino que regulam sua secreção. O hipotálamo exerce um controle inibitório sobre a secreção de prolactina através da dopamina, via ação sobre receptores D2 (Todd, 2005; Gillan, 2004). A prolactina, por sua vez, é estimulada pelo TRH, pelo peptídeo intestinal vasoativo (VIP) e por outros fatores, como a serotonina e os estrógenos (Arias Cáu, 2003).

Os lactotrófos da hipófise são estimulados pelos estrógenos. Estes estimulam a proliferação dos lactotrófos, o aumento da expressão do gene da prolactina e a liberação da mesma. Estes efeitos diretos dos estrógenos são confirmados por estudos *in vivo* que mostram que a exposição crônica à altos níveis de estradiol resultam em desenvolvimento de hiperprolactinemia e hiperplasia dos lactotrófos. Outros estudos em ratos ovariectomizados e knockout para receptores de estrógenos (ER α - *knockout*) exibem uma significativa redução dos níveis de prolactina e do número de lactotrófos, demonstrando que a função normal destas células é estrógeno dependente (Kansra, 2005).

Neste estudo, as dosagens séricas de prolactina de pacientes que faziam uso de fluoxetina apresentaram valores aumentados. No entanto, nas pacientes com idade acima de 45 anos, onde a maior parte destas pacientes encontrava-se na menopausa, os valores de prolactina não estavam aumentados. Nas mulheres entre 30 e 45 anos que estavam sobre o tratamento com fluoxetina se observou aumento da prolactina. Este foi menor que o aumento encontrado nas mulheres com até 29 anos, os quais chegaram a valores semelhantes aos encontrados em patologias primárias da hipófise. Comprovando que houve um declínio da influência da fluoxetina sobre a liberação da prolactina de acordo com o aumento da faixa etária.

Mulheres apresentam maior índice de depressão do que os homens e são particularmente vulneráveis nos períodos de mudança hormonal, como na pré e pós menopausa (Tam, 2003). Estudos epidemiológicos têm demonstrado um aumento na frequência de depressão durante a menopausa. O aumento de doenças depressivas têm sido atribuído ao progressivo declínio na produção de estrógenos após os 40 anos (Amsterdam, 1999).

A influência do TRH sobre a liberação de prolactina é estrógeno dependente e os estrógenos adicionalmente possuem efeito antidepressivo, controlando a liberação hipofisária da prolactina (Stevens, 1977; Ferland, 1979). O aumento nos níveis de serotonina induzidos pelo uso da fluoxetina induz a liberação de prolactina pela hipófise anterior (Clemens, 1977; Meltzer, 1997). Segundo nossos resultados, a ação da fluoxetina sobre a liberação da prolactina é maior em mulheres na menopausa (onde se infere que o nível séricos dos estrógenos esteja dentro dos valores considerados normais) e é possível que isso ocorra devido aos níveis de estrógenos, o que foi reforçado através dos valores obtidos das mulheres que estavam na menopausa, que provavelmente apresentavam um padrão de estrógenos reduzidos e conseqüentemente não sofreram alteração nos valores de prolactina sérica.

Segundo Peterson *et al.* (2001) há um aumento na prolactina logo que se inicia o tratamento com a fluoxetina, mas este efeito, em mulheres na menopausa, é temporário e logo a prolactina volta a valores basais, mesmo com a continuação do tratamento. É importante ressaltar que mulheres na menopausa que fazem reposição hormonal e usam fluoxetina possuem aumento da prolactina sérica, que po-

de até levar a galactorrêa. Este distúrbio é reversível com a descontinuação do tratamento com a fluoxetina.

Muitos medicamentos podem interferir em exames laboratoriais, por interferência metabólica ou metodológica, e por esse motivo o seu uso normalmente é informado. A alguns destes medicamentos não se dá muita importância, o que pode acarretar em diagnósticos errôneos. Os nossos resultados mostram a variabilidade que pode ocorrer nas dosagens de prolactina, que alcançam níveis considerados patológicos quando o paciente está sobre o tratamento com fluoxetina. Esta variação é proporcional a faixa etária da paciente, possivelmente devido a variação hormonal, comprovando a importância de se considerar o uso deste medicamento na interpretação de seus resultados, principalmente em mulheres na menopausa e quando na vigência de reposição hormonal.

REFERÊNCIAS

1. Amsterdam J, Garcia-Espana F, Fawcett J, Quitkin F, Reimherr F, Rosenbaum J, Beasley C. Fluoxetine efficacy in menopausal women with and without estrogen replacement. *J Affect Disord*; 55(1):11-7, 1999.
2. Arias Cáu AC, Alonso G, Pasqualini T. Prolactinoma en la adolescencia, un tumor frecuente. Experiencia de un servicio de endocrinología pediátrica. *Arch Argent Pediatr*; 101(2): 122-126, 2003.
3. Ascoli M, Segaloff DL. Hormônios adenohipofisários e seus fatores de liberação hipotalâmicos. In: Hardman JG, Limbird, LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG. Goodman & Gilman - As Bases Farmacológicas da Terapêutica. México: McGraw-Hill; p.1009-15, 1996.
4. Biller BMK, Daniels GH. Regulação neuroendócrina e doenças da adeno-hipófise e do hipotálamo. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL et al. Harrison - Medicina Interna. 14ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; v.2. p.2091-97, 1998.
5. Chanson P, Salenave S. Pathology of the pituitary stalk and diabetes insipidus. *Ann Endocrinol*; 66(1):50-4, 2005.
6. Ciccarelli A, Guerra E, De Rosa M, Milone F, Zarrilli S, Lombardi G, Colao A. PRL secreting adenomas in male patients. *Pituitary*; 8(1):39-42, 2005.
7. Clemens JA, Sawyer BD, Cerimela B. Further evidence that serotonin is a neurotransmitter involved in the control of prolactin secretion. *Endocrinology*; 100(3):692-698, 1977.
8. Ferland L, Labrie F, Euvrard C, Raynaud JP. Antidopaminergic activity of estrogens on prolactin release at the pituitary level in vivo. *Mol Cell Endocrinol*; 14(3):199-204, 1979.
9. Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A, Nagy G. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol Rev*; 80(4):1523-1631, 2000.
10. Frohman LA. Disease of anterior pituitary. In: Felig P, Baxter JD, Frohman LA. *Endocrinology and metabolism*. New York: McGraw Hill Inc.; 289-383, 1995.
11. Fuchs, FD, Wannmacher L. *Farmacologia Clínica - Fundamentos da Terapêutica Racional*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
12. Garthwaite TL, Hagen TC. Evidence that serotonin stimulates a prolactin-releasing factor in the rat. *Neuroendocrinology*; 29(3):215-20, 1979.
13. Gillam MP, Fideleff H, Boquete HR, Molitch ME. Prolactin excess: treatment and toxicity. *Pediatr Endocrinol Rev*; 1(2 Suppl):108-114, 2004.
14. Kansra S, Yamagata S, Sneade L, Foster L, Ben-Jonathan N. Differential effects of estrogen receptor antagonists on pituitary lactotroph proliferation and prolactin release. *Mol Cell Endocrinol*; 239(1-2):27-36, 2005.
15. Meltzer H, Bastani B, Jayathilake K, Maes M. Fluoxetine, but not tricyclic antidepressants, potentiates the 5-hydroxytryptophan-mediated increase in plasma cortisol and prolactin secretion in subjects with major depression or with obsessive compulsive disorder. *Neuropsychopharmacology*; 17(1):1-11, 1997.
16. Oliveira MC, Pizarro CB, Golbert L, Micheletto C. Hiperprolactinemia e distúrbios psiquiátricos. *Arq Neuropsiquiatr*; 58(3-A): 671-676, 2000.
17. Peterson MC. Reversible galactorrhea and prolactin elevation related to fluoxetine use. *Mayo Clin Proc*; 76(2):215-216, 2001.
18. Rossi A, Barraco A, Donda P. Fluoxetine: a review on evidence based medicine. *Ann Gen Hosp Psychiatry*; 3(1):2-8, 2004.
19. Silva AC e Lhullier FL. Informativo da Roche Diagnostics - Ano 7 - n° 5 out/nov 2005.
20. Stevens RW, Lawson DM. The influence of estrogen on plasma prolactin levels induced by thyrotrophin releasing hormone (TRH), clonidine and serotonin in ovariectomized rats. *Life Sci*; 20(2):261-265, 1977.
21. Storustovu S, Sanchez C, Porzgen P, Brennum LT, Larsen AK, Pulis M, Ebert B. R-citalopram functionally antagonizes escitalopram in vivo and in vitro: evidence for kinetic interaction at the serotonin transporter. *Br J Pharmacol*; 142(1):172-180, 2004.
22. Theunissen C, De Schepper J, Schiettecatte J, Verdood P, Hooghe-Peeters EL, Velkeniers B. Macroprolactinemia: clinical significance and characterization of the condition. *Acta Clin Belg*; 60(4):190-197, 2005.
23. Todd JF. Prolactin disorders. *Endocrine*. 33(1): 16-17, 2005.
24. Westlund Tam L, Parry BL. Does estrogen enhance the antidepressant effects of fluoxetine? *J Affect Disord*; 77(1):87-92, 2003.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Carlos Eduardo Leite
Avenida Ipiranga, 6681 - Caixa Postal 1429
CEP 90619-900 Porto Alegre - RS
Fone: (51) 96443005
E-mail: cadufar@yahoo.com.br

PRÊMIO HERMES PARDINI DE HORMONOLOGIA REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

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

II - DOS OBJETIVOS

O Prêmio Hermes Pardini de Hormonologia tem por objetivos;

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

III - DA PARTICIPAÇÃO

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

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

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

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

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

Rio de Janeiro, 30 de dezembro de 2006.

Dr. Ulisses Tuma
Presidente

Informações:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio Hermes Pardini de Hormonologia
Rua Vicente Licínio, 95 • Tijuca • 20270-902 • Rio de Janeiro • RJ

Cervicite por *Chlamydia trachomatis* em Mulheres Sexualmente Ativas Atendidas em um Serviço Privado de Ginecologia na Cidade de Fortaleza

Chlamydia trachomatis Cervicitis in Sexual Actives Women From a Private Gynecologic Service in Fortaleza City

Renata Mirian Nunes Eleutério¹; José Eleutério Junior²; Paulo César Giraldo³ & Ângela Maria Veras Muniz⁴

RESUMO - Introdução: A infecção por *Chlamydia trachomatis* geralmente é assintomática, acomete mulheres jovens sexualmente ativas e, quando não tratada adequadamente, pode ocasionar complicações como doença inflamatória pélvica, infertilidade e gravidez ectópica.

Objetivos: Avaliar a frequência de cervicite por *Chlamydia trachomatis* em serviço privado, na cidade de Fortaleza e correlacionar a infecção com achados clínicos.

Métodos: Foram utilizadas amostras colhidas de 214 mulheres sexualmente ativas, atendidas em serviços de ginecologia geral na cidade de Fortaleza, processadas através do método de Captura Híbrida (Digene ©) para detecção de DNA-*Chlamydia trachomatis*.

Resultados: Foram encontrados 6,08% de mulheres com positividade para *C. trachomatis*. A faixa etária com maior prevalência foi 26-30 anos. A infecção ocorreu em pacientes assintomáticas em 6,2% dos casos e, dentre as pacientes em que havia suspeita clínica, em 5,7%. Por outro lado, nos casos positivos, 61,63% não apresentavam queixas.

Conclusão: A frequência de cervicite por *C. trachomatis* em mulheres jovens sexualmente ativas não teve relação com sintomas ou achados clínicos, ressaltando a necessidade de um rastreio a fim de realizar o tratamento adequado, evitando possíveis complicações bastante dispendiosas, tanto para as mulheres quanto para a sociedade.

PALAVRAS-CHAVE - *Chlamydia trachomatis*, cervicite, doenças sexualmente transmissíveis, captura híbrida

SUMMARY - Introduction: *Chlamydia trachomatis* cervicitis is frequently asymptomatic, occurring in sexually active young women. Without treatment the picture can complicate with pelvic inflammatory disease, infertility and ectopic pregnancy.

Objectives: To determine the frequency of *Chlamydia trachomatis* cervical infection in sexually active women in private service in Fortaleza and to correlate with the clinical findings.

Methods: Cervical specimens from 214 sexually active women attending in general gynecologic services of Fortaleza were evaluated by hybrid capture to search DNA-*Chlamydia trachomatis*. Clinical data was listed from the requirement information.

Results: The rate of *Chlamydia trachomatis* cervical infection was 6,08%. The most women were between 26-30 years old. The infection was detected in 6,2% of asymptomatic women and in 5,7% of those with symptoms. In the other hand, when the test was positive 61,63% had no symptoms.

Conclusion: The *Chlamydia trachomatis* cervicitis frequency is important in young sexually active asymptomatic women and deserves screening to avoid complications and high costs in specialized treatment.

KEYWORDS - *Chlamydia trachomatis*, cervicitis, sexually transmitted diseases, hybrid capture

INTRODUÇÃO

A *Chlamydia trachomatis* é o microorganismo responsável por mais da metade dos casos de uretrite não-gonocócica, bem como de inúmeros casos de cervicites. A OMS (Organização Mundial da Saúde) estima que ocorram, anualmente, mais de 90 milhões de casos novos de infecções causadas por este patógeno em todo o mundo. No Brasil, não há um cálculo oficial da prevalência da infecção¹².

Um fator preocupante é a alta prevalência da infecção assintomática em adultos jovens que leva a complicações, tais como: doença inflamatória pélvica, infertilidade e gravidez ectópica, com conseqüente alto custo anual destas seqüelas de infecções por clamídia, que é estimado em 4 bilhões de dólares, alcançando, assim, o segundo lugar entre as doenças sexualmente transmissíveis mais dispendiosas para a sociedade. Além disso, a infecção por clamídia também pode facilitar a contaminação pelo HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana)³. Tudo isso implica na urgente necessidade de adoção de medidas de saúde pública com a finalidade de prevenção e controle da *C. trachomatis*.

Toda mulher, com menos de 25 anos, com vida sexual ativa, deveria fazer o exame de rastreamento para *Chlamydia*

trachomatis, estando grávida ou não. A infecção é mais prevalente entre 18-25 anos, denunciando que os adolescentes apresentam alto risco de infecção desde o início da vida sexual².

A prevalência de infecção por *Chlamydia trachomatis* entre mulheres, na cidade de Fortaleza, é uma realidade desconhecida. Faltam dados estatísticos, não só no Ceará como no Brasil. Isto ocorre pela insidiosidade da infecção que por não estar associada a sintomas é frequentemente negligenciada no seu diagnóstico e tratamento precoces.

Assim, é mister que se faça uma avaliação da frequência de cervicites por este patógeno entre mulheres sexualmente ativas atendidas em serviços de ginecologia geral, para que seja evidenciada a importância de seu rastreio, estimulando esta conduta em prol da saúde da mulher.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo descritivo, retrospectivo, de uma série histórica de mulheres atendidas em clínicas de ginecologia geral na cidade de Fortaleza - Brasil, cujas amostras foram processadas no período de 25/02/2002 a 18/02/2006. Foram analisados resultados de 214 amostras de material

Recebido em 29/09/2006

Aprovado em 15/10/2007

¹Aluna de Graduação do Curso de Ciências Farmacêuticas - Centro de Ciências da Saúde - Universidade de Fortaleza; ²Chefe do Serviço de Patologia do Trato Genital Inferior - Maternidade Escola Assis Chateaubriand - Universidade Federal do Ceará e Doutorando em Tocoginecologia no Departamento de Tocoginecologia - Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP); ³Professor Livre-docente do Departamento de Tocoginecologia - Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP); ⁴Professora Adjunta do Curso de Ciências Farmacêuticas - Centro de Ciências da Saúde - Universidade de Fortaleza

cervical utilizando o método de Captura Híbrida II, com a finalidade de identificar DNA de *Chlamydia trachomatis*, de acordo com os seguintes critérios:

Critérios de inclusão:

- Mulheres sexualmente ativas ou que já tiveram coito vaginal e que procuraram o serviço privado de ginecologia por qualquer motivo.

Critérios de exclusão:

- Mulheres sem vida sexual ativa ou que nunca tiveram coito vaginal
- Mulheres em uso de drogas imunossupressoras ou medicação vaginal
- Mulheres que tenham tido coito vaginal até três dias antes da coleta
- Mulheres no período menstrual
- Gestantes

Para avaliação estatística os casos foram divididos em dois grupos; um grupo de mulheres que foram diagnosticadas com cervicite por *Chlamydia trachomatis* pela captura de híbridos e um segundo grupo formado por mulheres com o teste negativo. A avaliação de significância estatística foi realizada para um intervalo de confiança de 95%.

O projeto foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da Universidade de Fortaleza.

RESULTADOS

Foram estudados 214 casos de mulheres que buscaram um serviço de ginecologia geral por qualquer motivo e cujas amostras cervicais foram enviadas juntamente com informações clínicas ao laboratório para realização de captura híbrida (ch2) para *Chlamydia trachomatis*. Observou-se que a faixa etária variou entre 17-59 anos, com uma média de 29,99 anos, apresentando um desvio padrão de 8,9.

Do total de casos houve a seguinte distribuição por faixa etária: 9 pacientes (4,2%) com idade abaixo de 20 anos, 76 (35,5%) apresentaram idade entre 20-25 anos, 41 (19,16%) entre 26-30, 39 (18,2%) entre 31-35, 23 (10,74%) entre 36-40, 11 (5,14%) entre 41-45, 9 (4,2%) entre 46-50 e 6 (2,8%) apresentaram idade superior a 50 anos de idade (Figura 01).

Das 214 amostras cervicais submetidas ao teste de captura híbrida 13 foram positivas para *Chlamydia trachomatis* (6,08%) (Figura 02), com a carga bacteriana variando de 1,31 RLU/CT a 1347,77 RLU/CT, com uma média de 481,20 e um desvio padrão de 605,7.

Dentre os casos negativos (201), a maioria das pacientes apresentaram idade entre 20-25 anos 73 (36,3%), seguidas pelos grupos entre 26-30 anos com 34 (16,9%) e entre 31-35 anos com 37 casos (18,4%). Já nos casos positivos (13), duas pacientes (22,22%) apresentaram idade entre 20-25, cinco (55,56%) entre 26-30 anos, uma (11,11%) entre 31-35 anos e uma (11,11%) entre 36-40 anos (tabela 01).

As razões que levaram o clínico a solicitar o teste para as 214 pacientes, ressaltando-se que em alguns casos houve mais de uma queixa, foram bastante variáveis. Em 7 casos (3,24%) havia diagnóstico de uretrite, em 20 (9,26%) colposcopia anormal, em 1 (0,46%) citologia suspeita, em 12 (5,56%) outras doenças sexualmente transmissíveis (DST), em 1 (0,46%) sinusiorragia, em 1 (0,46%) infertilidade, em 4 (1,85%) história de parceiro com DST, em 2 (0,93%) presença de ectopia, em 12 (5,56%) dor pélvica, em 5 (2,32%) colo friável, em 2 (0,93%) referência de ardor vaginal, e corrimento persistente em 27 (12,5%) casos. Em 129 casos (59,72%) as mulheres eram assintomáticas (Figura 03).

Nos 13 casos positivos observou-se que 8 pacientes (61,53%) foram ao serviço de ginecologia geral para consulta e exames de rotina, sendo assintomáticas, uma

(7,69%) apresentava colposcopia anormal, três (23,08%) tinham relato de outras DST e 2 (15,38%) queixavam-se de corrimento persistente (Tabela 02).

Levando-se em conta os dois grupos de estudo, um formado por pacientes assintomáticas (n=129) e outro de pacientes que apresentavam queixas clínicas (n=85), observou-se que a frequência de positividade do teste de ch2 para *Chlamydia trachomatis* no primeiro grupo foi de 8 casos (6,2%), enquanto no segundo grupo foi de 5 casos (5,7%) (ρ sem significância estatística) (Figura 04).

TABELA I

Distribuição das amostras estudadas segundo a faixa etária e a positividade do teste de captura de híbridos de segunda geração para *Chlamydia trachomatis*.

Idade	Teste positivo para <i>Chlamydia</i>		Teste negativo para <i>Chlamydia</i>	
	n	%	n	%
< 20	0	0	9	4,6
20-25	3	23,1	73	36,3
26-30	7	53,8	34	16,9
31-35	2	15,4	37	18,4
36-40	1	7,7	22	10,8
41-45	0	0	11	5,4
46-50	0	0	9	4,6
>50	0	0	6	3,1
Total	13	100	201	100

TABELA I

Distribuição das amostras estudadas segundo a faixa etária e a positividade do teste de captura de híbridos de segunda geração para *Chlamydia trachomatis*.

História clínica (*)	Teste positivo para <i>Chlamydia</i>		Teste negativo para <i>Chlamydia</i>	
	n	%	n	%
Assintomática	8	61,53	121	56,02
Corrimento persistente	2	15,38	25	11,57
Ardor vaginal	0	0	2	0,93
Colo friável	0	0	5	2,31
Dor pélvica	0	0	12	5,56
Ectopia	0	0	2	0,93
Infertilidade	0	0	1	0,46
Parceiro com DST	0	0	4	1,85
Outras DST	3	23,08	16	7,4
Sinusiorragia	0	0	1	0,46
Citologia anormal	0	0	1	0,46
Colposcopia anormal	1	7,69	19	8,8
Outros	0	0	7	3,24

(*) Algumas com mais de um sintoma ou sinal na história clínica.

DISCUSSÃO

O estudo foi realizado em amostras de uma população não controlada de mulheres atendidas em serviços diversos da cidade de Fortaleza, tendo como única similaridade a realização do teste em um laboratório específico. Assim, pode-se ter uma noção da conduta clínica dos ginecologistas em relação à solicitação do teste para clamídia, bem como da real frequência do patógeno neste grupo estudado, sem causar o viés de um grupo controlado de alto risco, como poderia ocorrer, por exemplo, em serviços específicos de adolescentes, de infertilidade ou de doenças sexualmente transmissíveis (DST).

A frequência da infecção por *Chlamydia trachomatis* foi de 6,08%, o que está de acordo com a variação observada em outras pesquisas sobre o assunto, apesar de Johnson *et al.* (2002)¹⁰ terem considerado uma prevalência de 2,4 a 2,5% conforme faixa etária. No entanto, em serviço de saúde pública na Bahia, Codes *et al.* (2002, 2006)^{4, 5} tiveram uma prevalência de 11,4%, utilizando o teste de amplificação do DNA na urina pela técnica de LCR (reação em cadeia de ligase). Araújo e Guimarães (2002)², em estudo abordando apenas adolescentes, observaram uma cifra de 19,6% através do exame de amplificação de DNA clamidial (PCR/Amplificador Roche®). Já Alvarado-Esquivel *et al.* (2000)¹, usando prova imunoenzimática Chlamydiazyme (Abbott Laboratories), obteve cifra de 16,6% em prostitutas. Leite e Mendonça (2001)⁹, em um estudo em gestantes, identificaram a infecção em 10,2% dos casos estudados através do PCR (reação em cadeia de polimerase). Em um estudo de caso-controle de mulheres HIV positivo, Kouri *et al.* (2002)⁸ observaram uma prevalência nos casos índice de 11% contra 6% no grupo de mulheres HIV negativo, também através do método de PCR.

Os dados aqui apresentados permitem fazer suposições pela própria característica do método de captura híbrida na pesquisa de clamídia em material endocervical conforme estudos de Girdner *et al.* (1999)⁷ e Pol *et al.* (2002)¹¹, que observaram, comparando este método com PCR, PCR/Amplificador e cultura, uma sensibilidade e valor preditivo negativo maiores (95,4% e 99,4%, respectivamente).

A carga bacteriana foi estudada em um pequeno número de casos, com grande desvio padrão, o que não permite tirar maiores conclusões. Os demais estudos de pesquisa de DNA de *Chlamydia*, tanto por captura híbrida (Girdner *et al.*, 1999)⁷ como por técnica de PCR (Araújo e Guimarães, 2002)², não abordaram esse aspecto para avaliação comparativa dos resultados.

Foi interessante observar que, mesmo quando se separavam os grupos entre casos positivos e negativos para o patógeno, não houve substancial mudança na distribuição etária (pico acima de 20 anos), diferente daquilo que se espera normalmente, que é uma população mais jovem apresentando maior prevalência da clamídia, fato já demonstrado por outros autores (Araújo e Guimarães, 2002²; Codes *et al.*, 2006³). Isto se explica pela variação da frequência de infecção por clamídia segundo os grupos estudados, conforme já tinham observado Katz *et al.* e Cohen *et al.*, segundo Codes *et al.* (2006)⁵ e talvez pela própria demora no diagnóstico da infecção.

Nos casos estudados, 59,72% não apresentavam queixas. Os demais apresentaram achados ou sintomas que induziriam o clínico a suspeitar de uma ação citopática bacteriana. Destes, o achado mais comum foi corrimento persistente (12,5%). Dentre os casos positivos, também a avaliação de rotina foi a mais freqüente (61,63%) e a queixa mais co-

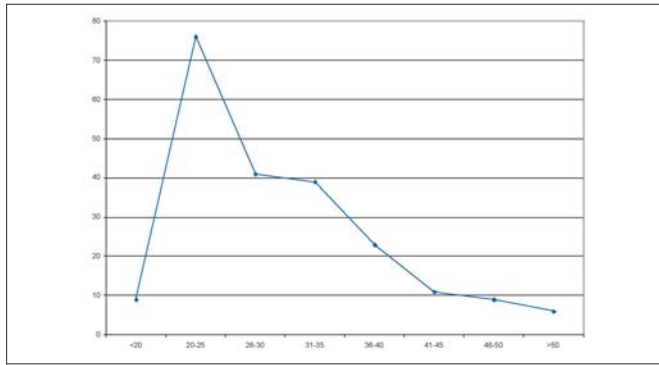


Figura 01 – Distribuição Etária dos Casos Estudados.

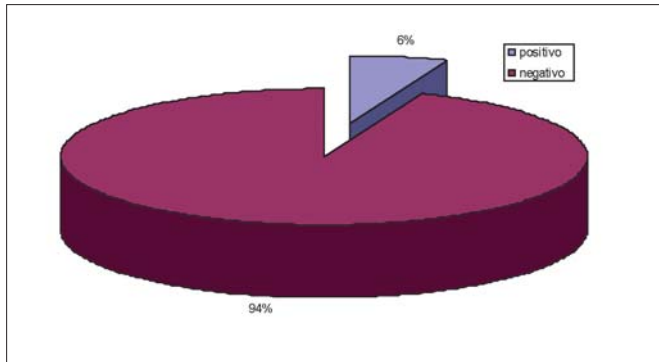


Figura 02 – Frequência de *Chlamydia trachomatis* nas amostras cervicais estudadas (n=214).

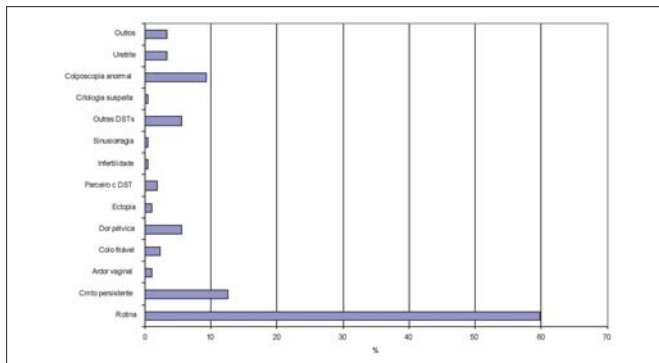


Figura 03 - Indicações para o teste de *Chlamydia* por captura de híbridos nas 214 amostras cervicais estudadas.

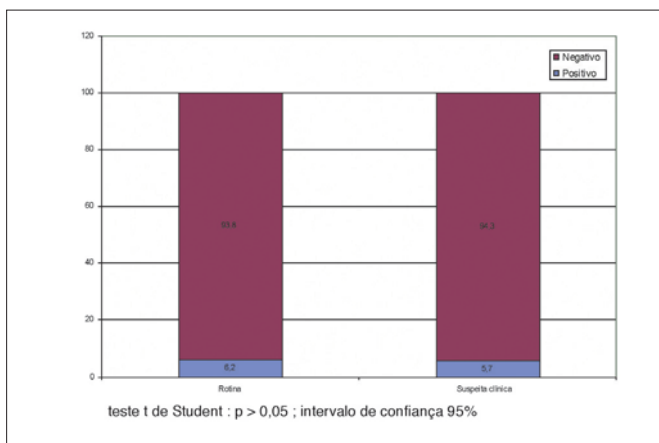


Figura 04 – Frequência de positividade do teste de captura de híbridos para *Chlamydia* conforme a presença (n=85) ou ausência (n=129) de sintomas ou sinais na história clínica.

mum foi a de outras DST (23,08%). Para Codes *et al.* (2002)⁴ a ausência de sintomas foi observada em 60,9% dos casos de infecção cervical por clamídia, fato que foi corroborado por estudos de Araújo e Guimarães (2002). Isto, segundo Johnson *et al.* (2002)¹⁰, faz com que muitas mulheres infectadas, devido a falta ou inespecificidade de sintomas, não procurem assistência adequada, levando a até 40% de doença inflamatória pélvica com grandes possibilidades de complicações; dentre estas, infertilidade (20%) e dor pélvica crônica (18%). Assim, é crucial a observação de que as suspeitas clínicas não se associaram a uma maior prevalência da *Chlamydia*. Concordando com Johnson *et al.* (2002)¹⁰, Araújo e Guimarães (2002)², Finan *et al.* (2002)⁶, Codes *et al.* (2002)⁴ e Codes *et al.* (2006)⁵, observa-se a necessidade e a importância do rastreamento, uma vez que sintomas ou sinais em nada ajudam para o diagnóstico da infecção cervical por clamídia.

Através do presente trabalho pode-se concluir que a prevalência de *Chlamydia trachomatis* em mulheres atendidas em serviço de ginecologia geral na cidade de Fortaleza foi relativamente alta. A faixa etária dos casos estudados foi ampla, bem como especificamente nos casos positivos, muito embora a maior frequência tenha ocorrido abaixo de 30 anos. A maior parte das mulheres acometidas foram assintomáticas, dificultando definir sintomas específicos para a infecção por este patógeno, evidenciando a necessidade de um rastreamento da *Chlamydia trachomatis*.

Assim, concordando com Johnson *et al.* (2002)¹⁰, Araújo e Guimarães (2002)², Finan *et al.* (2002)⁶, Codes *et al.* (2002)⁴ e Codes *et al.* (2006)⁵, observa-se a necessidade e a importância do rastreamento, uma vez que sintomas ou sinais em nada ajudam para o diagnóstico da infecção cervical por clamídia.

REFERÊNCIAS

1. Alvarado-Esquivel C, Garcia-Villanueva A, Castruita-Limones, Cardoso-Neárez FJ, Ruiz-Astorga R. Prevalence of Chlamydia trachomatis infection in registered prostitutes of Durango City, Mexico. *Salud Pub Mex* 2000; 42(1): 43-47.
2. Araújo RSC, Guimarães EMB. Estudo da Infecção Genital por Chlamydia trachomatis em Adolescentes e Jovens do Sexo Feminino no Distrito Sanitário

Leste do Município de Goiânia: Prevalência e Fatores de Risco. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2002; 24(7): 492-492.

3. Black, CM. Current Methods of Laboratory Diagnosis of Chlamydia trachomatis Infections. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10(1): 160-184.
4. Codes JS, Cohen DA, Melo NA, Santos ABS, Codes JG et al. Detecção de Doenças Sexualmente Transmissíveis em Clínica de Planejamento Familiar da Rede Pública no Brasil. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2002; 24(2): 101-106.
5. Codes JS, Cohen DA, Melo NA, Teixeira GG, Leal AS et al. Detecção de doenças sexualmente transmissíveis em ambientes clínicos e não clínicos na Cidade de Salvador, Bahia, Brasil. *Cad Saúde Pub* 2006; 22(2): 325-334.
6. Finan RR Tamim H, Almawi WY. Identification of Chlamydia trachomatis DNA in human papillomavirus (HPV) positive women with normal and abnormal cytology. *Arch Gynecol. Obstet.* 2002; 266: 168-171.
7. Girdner JL, Cullen AP, Salama TG, He L, Lorincz A et al. Evaluation of the Digene Hybrid Capture II CT-ID Test for Detection of Chlamydia trachomatis in Endocervical Specimens. *J Clin Microbiol*, 1999; 37(5): 1579-1581.
8. Kouri V, Cartaya J, Rodriguez ME, Muné M, Soto I et al. Prevalence of Chlamydia trachomatis in human immunodeficiency virus-infected women in Cuba. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2002; 97(8): 1073-1077.
9. Leite RCS, Mendonça M. Infecção Cervical Causada por Chlamydia Trachomatis em Gestantes. Estudo de Prevalência e Fatores de Risco. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2001; 23(1): 58-58.
10. Johnson RE, Newhall WJ, Papp JR, Knapp JS, Black CM et al. Screening Tests To Detect Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae Infections — 2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2002; 51(RR-15).
11. Pol BVD, Williams JA, Smith NJ, Batteiger BE, Cullen AP. Evaluation of the Digene Hybrid Capture II Assay with the Rapid Capture System for Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. *J of Clin Microbiol* 2002; 40(10): 3558-3564.
12. Seadi CF, Oravec R, Poser BV, Cantarelli VV, Rossetti ML. Diagnóstico laboratorial da infecção pela Chlamydia trachomatis: vantagens e desvantagens das técnicas. *J Bras Patol Med Lab.* 2002; 38(2): 125-133.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Renata Mirian Nunes Eleutério
Rua Tenente Benévolo, 1560, apto 202. Meireles
CEP 60160-041 Fortaleza- CE
Telefone: 3224-6712 Celular: 8862-6787
E-mail: renatamirian@hotmail.com

IFCC WorldLab 2008

20th International Congress of Clinical Chemistry
35^o Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
8^o Congresso Brasileiro de Citologia Clínica



28 de setembro a 02 de outubro 2008
Fortaleza - CE - Brasil



Sociedade
Brasileira de
Análises
Clínicas

A SBAC facilita para você ir ao
maior congresso mundial de
Análises Clínicas.

Promoção de Aniversário

Inscrições a R\$ 400,00 até 31 de março.
Corra e aproveite!

Maiores informações:
21 2187-0800 - geral@sbac.org.br - www.sbac.org.br

Brinquedos em uma brinquedoteca: um perigo real?

Toys in a playroom: a real danger?

Ana Paula Carrasco Borges Freitas¹; Michelle Cristina Ferreira da Silva¹; Tatiane Cruz de Carvalho¹;
Maria Auxiliadora Mancilha Pedigone² & Carlos Henrique Gomes Martins¹

RESUMO - A hospitalização de uma criança desencadeia uma ruptura inevitável em sua vida cotidiana; assim, a brinquedoteca surge como um espaço estruturado que visa oferecer experiências positivas durante a internação, porém os brinquedos podem ser fonte de contaminação pela presença de microrganismos nestes objetos. Os objetivos dessa pesquisa foram avaliar a presença de bactérias nos brinquedos utilizados por crianças hospitalizadas, bem como, analisar o perfil de resistência às drogas dos isolados bacterianos de interesse médico. As amostras coletadas foram semeadas em meios de cultura enriquecidos e seletivos e após o crescimento foram repicadas a fim de se obter colônias isoladas, para posterior identificação. Os resultados obtidos mostraram um grande número de bactérias pertencentes à microbiota do ambiente e humana, como as do gênero *Bacillus* sp, *Acinetobacter* sp, *Enterobacter* sp e *Staphylococcus* sp. Com exceção do gênero *Bacillus* sp, as bactérias isoladas são potencialmente patogênicas, principalmente para crianças hospitalizadas. Os resultados do teste de susceptibilidade às drogas mostraram que 90% das bactérias são resistentes a uma ou mais drogas testadas. Conclui-se então que os brinquedos apresentam contaminação por bactérias potencialmente patogênicas e podem causar infecção cruzada. A maioria das bactérias são sensíveis às drogas testadas.

PALAVRAS-CHAVE - brinquedos, infecção hospitalar, contaminação bacteriana, contaminação de superfície, brinquedoteca.

SUMMARY - The hospitalization of a child leads to an inevitable change in her daily life. So a play room is a structured area whose aim is to offer positive experience during the period of hospitalization. However, the toys in a playroom may be a way of contamination due to the presence of microorganisms on them. The aims of this study were to evaluate the presence of bacteria in the toys that are used by children and also to analyze the resistant patterns to drugs from the isolated bacteria that are important. The samples were inoculated in enriched and selective agar plates and after the growth they were transferred in order to obtain isolated colonies, for posterior identification. The outcomes showed a high number of environmental and normal human flora bacteria such as the genus *Bacillus* sp, *Acinetobacter* sp, *Enterobacter* sp and *Staphylococcus* sp. With the exception of the genus *Bacillus* sp, the isolated bacteria can be potentially pathogenic, especially for hospitalized children. The susceptibility test showed that 90% of the bacteria are resistant to one or more drugs tested. In conclusion, toys are contaminated with potentially pathogenic bacterial and can be a potential source of cross-infection. Most of the bacteria are sensible to the drugs tested.

KEYWORDS - toys, nosocomial infection, bacterial contamination, surface contamination, playroom.

INTRODUÇÃO

A infecção hospitalar surgiu no período medieval, quando foram criadas instituições para alojar pessoas doentes, peregrinos, pobres e inválidos, facilitando assim a transmissão de doenças contagiosas nesse ambiente confinado⁹. De acordo com o Ministério da Saúde (Portaria n° 2.616, de 12 de maio de 1998), infecção hospitalar é a infecção adquirida após a admissão do paciente e cuja manifestação ocorreu durante a internação ou após a alta podendo ser relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares¹⁰. Segundo SAVITEER *et al.*²⁰, o paciente tem maior chance de desenvolver infecção hospitalar durante a internação. A ocorrência de infecção hospitalar determina um aumento no tempo e nos custos de internação e nos índices de mortalidade¹¹.

O meio ambiente hospitalar, incluindo o ar, a água e as superfícies inanimadas que cercam o paciente, também guarda íntima relação com as infecções hospitalares, podendo proporcionar focos de contato e de transmissão. De uma maneira geral, a remoção de sujidade tem por finalidade primordial impedir a disseminação de microrganismos que colonizam as superfícies horizontais dos mobiliários, como *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*, *Pseudomonas* sp, *Proteus* sp, *Serratia marcescens*, *Candida* sp e outros¹⁸. Objetos inanimados são considerados um dos principais transmissores de patógenos⁵. Organismos patogênicos como vírus, bactérias e protozoários podem ser excretados em grande número nos fluidos biológicos como sangue, muco, saliva, fezes e urina¹². Alguns microrganismos são

infecciosos em pequenas quantidades e podem sobreviver por horas ou até semanas em uma superfícies¹⁴.

No ambiente hospitalar, os brinquedos compartilhados por crianças nas brinquedotecas também podem ser transmissores de patógenos. As crianças são susceptíveis a infecções cruzadas porque elas compartilham os brinquedos presentes neste ambiente onde estão internadas, também pode ocorrer de as crianças levarem seus próprios brinquedos para o hospital e compartilha-los com outras crianças⁸. Algumas publicações têm alertado o perigo de infecções cruzadas envolvendo brinquedos no ambiente hospitalar, destacando a importância da limpeza e desinfecção dos mesmos²⁻⁴⁻¹⁵⁻¹⁶⁻¹⁹⁻²¹⁻²². Uma rotina institucional deve ser elaborada, especificando a periodicidade da limpeza e desinfecção dos brinquedos. Deve existir uma política clara sobre o manejo dos brinquedos utilizados por crianças em precauções específicas nos hospitais, pois em alguns casos os pacientes são proibidos de frequentar a brinquedoteca, mas podem realizar as atividades recreativas dentro do próprio quarto. Porém, ao término da brincadeira ou na sua alta, os brinquedos deverão ser limpos e desinfetados antes de retornarem a brinquedoteca⁶. Segundo CARDOSO *et al.*⁶, o trabalho integrado entre a equipe multidisciplinar da unidade pediátrica, a equipe da brinquedoteca e o serviço de controle de infecção hospitalar constituem a base para a adesão às práticas de prevenção e controle das infecções veiculadas pelos brinquedos. Face ao exposto, é necessário que a brinquedoteca realize periodicamente a avaliação da presença de microrganismos nos brinquedos e estabeleça medidas profiláticas para o controle de infecções hospitalares.

Recebido em 24/11/2006

Aprovado em 16/10/2007

¹Laboratório de Pesquisa em Microbiologia Aplicada - LaPeMA, Universidade de Franca, Franca/SP;

²Hospital Santa Casa de Franca - Comissão de Controle de Infecção Hospitalar, Franca/SP

OBJETIVOS

Os objetivos desta pesquisa foram avaliar a presença de bactérias em brinquedos utilizados por crianças hospitalizadas e o perfil de resistência às drogas dos isolados bacterianos de interesse médico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local e amostragem

Foram coletadas 30 amostras de 10 brinquedos diferentes (triplicata), de plástico duro, durante seis semanas na brinquedoteca de um hospital filantrópico do interior do estado de São Paulo. As amostras foram coletadas semanalmente no período da manhã, pois o fluxo de crianças na brinquedoteca era mais intenso neste horário. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Franca (Processo n. 071/06).

Ensaio bacteriológico

As amostras foram coletadas com swabs esterilizados umedecidos em solução de cloreto de sódio a 0,9% esterilizada. Em seguida, foram semeadas na superfície de meios de cultura enriquecidos, seletivos e diferenciais com posterior incubação em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas. Os meios utilizados foram: ágar Sangue, ágar MacConkey, ágar Manitol e ágar Cetrimide (Difco, Sparks, MD, USA). Após o crescimento das colônias, as bactérias foram repicadas para outro meio a fim de se obter colônias isoladas para a identificação. O teste de susceptibilidade as drogas foi realizado de acordo com o NCCLS¹⁷.

As drogas antimicrobianas utilizadas para o teste de susceptibilidade para bacilos Gram-negativos foram: Tobramicina (TOB), Ticarcilina (TIC), Cefotaxima (CTX), Ampicilina+Sulbactam (AMP), Amicacina (AMI), Ceftazidima (CAZ), Aztreonam (ATM), Nitrofurantoína (NIT), Tetraciclina (TET), Gentamicina (GEN) e Imipenem (IPM); para *Staphylococcus* sp foram utilizados: Vancomicina (VAN), Tetraciclina (TET), Gentamicina (GEN), Penicilina (PEN), Clindamicina (CLI), Norfloxacin (NOR), Oxacilina (OXA), Eritromicina (ERI) e Nitrofurantoína (NIT)³. Os discos de antimicrobianos utilizados para este teste foram adquiridos da Cecon (Cecon, São Paulo, SP, Brasil).

Identificação bacteriana

As colônias isoladas a partir dos meios de cultura foram submetidas à coloração de Gram e em seguida identificadas utilizando testes bioquímicos convencionais e sistemas comerciais: BBL Crystal Identification Systems Gram-Positive ID Kit e BBL Crystal Identification Systems Enteric/Nonfermenters ID Kit (Becton & Dickinson, Sparks, MD, USA). As características morfológicas, morfologia da colônia, tempo e temperatura de crescimento apresentadas pela bactéria isolada direcionaram a identificação bioquímica³.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Crianças frequentemente necessitam de internação hospitalar para cuidar de suas condições clínicas. Porém a infecção adquirida em ambiente hospitalar assume grande importância nesse grupo etário devido à alta taxa de mortalidade, por isso, medidas profiláticas devem ser adotadas para evitar que infecções hospitalares ocorram neste ambiente, sendo uma delas, a lavagem e desinfecção dos brinquedos utilizados por crianças em brinquedotecas de hospitais.

Na avaliação da contaminação bacteriana nos 10 brinquedos pesquisados, foram recuperadas seis gêneros e 22 espécies. O número de bactérias e o percentual de isolamento estão representados na Tabela 1. Dentre esses gêneros, os mais encontradas foram bactérias do gênero *Bacillus* (48,0% - 58/121), porém, sem importância médica. Dentre

as espécies do gênero *Staphylococcus*, a prevalente foi *Staphylococcus warneri* (17,4% - 21/121), seguido por *S. haemolyticus* (10,0% - 12/121) e *S. xylosus* (6,0% - 7/121). Foram encontradas também duas espécies de bacilos Gram-negativos *Enterobacter cloacae* (4,1% - 5/121) e *E. sakazakii* (1,6% - 2/121), estes são normalmente encontrados no intestino humano evidenciando que pode estar ocorrendo contaminação dos brinquedos pelas mãos dos pacientes. Somente uma espécie de *Acinetobacter* foi encontrada (*Acinetobacter lwoffii*), correspondendo a 4,1% (5/121) do total de isolados.

Os estafilococos *S. warneri*, *S. haemolyticus* e *S. xylosus* foram encontrados nas três coletas. *S. haemolyticus* e *S. xylosus* mantiveram seu número nas três coletas, porém *S. warneri* apresentou um decréscimo em seu isolamento.

Na pesquisa realizada por ÁVILA – AGUERO² para avaliar se os brinquedos já estavam contaminados quando entravam no hospital ou se eram contaminados neste ambiente, o gênero *Bacillus* também foi encontrado (19,5% - 33/169), porém, houve a prevalência de *Staphylococcus* coagulase – negativa (45,5% - 77/169). Neste trabalho foi encontrado também *Enterobacter cloacae* (0,6% - 1/169). Em nossa pesquisa também isolamos estes microrganismos, porém em menores percentuais de *Staphylococcus* coagulase – negativa (38,8%) e *Enterobacter cloacae* (4,1%), e um percentual maior do gênero *Bacillus* (48,0%). A metodologia utilizada em nossa pesquisa para a coleta do material foi igual a usada por ÁVILA – AGUERO² em sua pesquisa. Os resultados deste pesquisador demonstraram que quando os brinquedos entravam no hospital já eram considerados fontes de contaminação, pois a primeira cultura dos brinquedos (quando o paciente entrava no hospital) apresentou maior número de bactérias.

SUVISTE²² em seu estudo na ala pediátrica de um hospital no Reino Unido para investigar se os brinquedos são fontes de infecção cruzada, demonstrou que não houve crescimento de microrganismos patogênicos. Houve crescimento de *Staphylococcus albus*, que é normalmente encontrado na microbiota nasal de pessoas saudáveis, e de *Bacillus* sp, como em nossa pesquisa. O autor justifica que não foi encontrada nenhuma bactéria patogênica porque os brinquedos foram selecionados de maneira aleatória, se uma seleção diferente fosse feita os resultados seriam diferentes, especialmente se fossem usados brinquedos de crianças com alguma doença infecciosa. Apesar de não ter sido encontrado nenhuma bactéria patogênica, recomendações foram feitas após este estudo para que os brinquedos fossem limpos frequentemente e lavados com água e detergente quando estivessem sujos.

BUTTERY *et al.*⁴ realizaram o primeiro estudo com brinquedos de banho em ambiente hospitalar. Este estudo foi realizado em uma unidade oncológica pediátrica e demonstrou uma associação significativa entre a infecção por *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente e o uso de brinquedos de banho, pois as cepas isoladas nos pacientes e nos brinquedos de banho apresentaram padrões idênticos quando analisadas por técnica de biologia molecular. Nesta pesquisa não foi encontrado nenhuma bactéria do gênero *Pseudomonas* sp.

DAVIS *et al.*⁷, verificando a contaminação bacteriana em piscina de bolinhas de restaurantes, encontrou bactérias do gênero *Streptococcus* sp. A metodologia utilizada para coleta do material foi à mesma usada em nossa pesquisa. e os resultados demonstraram que 47,2% de *Streptococcus* sp foi encontrado. Neste trabalho encontramos *Streptococcus sanguis* (0,8% - 1/121). Esta bactéria é encontrada em grande número nos dentes e podem entrar na corrente sanguínea através de ferimentos nas gengivas causados por placas bacterianas, podendo provocar formação de coágulos que podem levar a ataques cardíacos e derrames¹.

No estudo de DAVIS *et al.*⁷, foi encontrado também um grande número de *Acinetobacter lwoffii* (30,7%), fato coincidente com este estudo, embora em menor percentagem (4,1%). Esta bactéria está associada a um grande número de infecções humanas como pneumonia, endocardites, meningites, infecções de garganta, de pele e do trato urinário. Nesta pesquisa foi encontrado também um grande percentual de *Staphylococcus epidermidis* (73,0%), diferentemente desta pesquisa onde obtivemos apenas um isolado (0,8% - 1/121). Apesar de ser considerada bactéria da microbiota normal, em condições favoráveis pode causar sérias infecções como as infecções de pele benignas²⁵.

Na avaliação da contaminação por bactérias de brinquedos hospitalares foram recuperadas algumas bactérias que não se encontrou nesta pesquisa. Dentre estas, podemos citar *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia mace-rans*, *Stenotrophomonas sp*, *Pseudomonas sp*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*²⁻⁷.

Após levantamento bibliográfico, não encontrou-se referência sobre o isolamento da bactéria *Leclercia adenocarboxylata* encontrada neste trabalho (2,4% - 3/121). Esta bactéria pertence à microbiota do ambiente³.

As bactérias do gênero *Staphylococcus sp* isoladas nesta pesquisa apresentaram resistência à penicilina G e à oxacilina. O perfil de resistência das cepas isoladas está representado na tabela 2.

Dentre os bacilos Gram-negativos encontrados (*Enterobacter cloacae* e *Enterobacter sakazakii*), todos se apresentaram sensíveis à amicacina e ao imipenem. Algumas espécies apresentaram resistência ao antimicrobiano ceftazidima e à cefuroxima. A maioria dos casos de infecção por *E. sakazakii* relatada na literatura científica tem descrito recém-nascidos com sepsis, meningite, ou enterocolite necrozante como consequência da infecção e a taxa de casos fatais entre os infectados é de 33%¹³. Essa bactéria tem sido também uma rara causa de bacteremia e osteomielite em adultos. A literatura sugere que crianças prematuras e aquelas com algum problema de saúde podem ter maiores risco de infecção por *E. sakazakii*. Vários surtos têm ocorrido em unidades de cuidado neonatal intensivo em todo o mundo²⁴. Segundo DAVIS *et al.*⁷, o *Acinetobacter lwoffii* apresenta resistência a antimicrobianos como penicilina G e aztreonam e são sensíveis à tetraciclina. Nesta pesquisa este microrganismo também foi resistente aos mesmos antibióticos.

TABELA I
Percentual de isolamento bacteriano e número de bactérias dos 10 brinquedos avaliados (30 amostras).

Microrganismos	Coleta 1		Coleta 2		Coleta 3		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Gênero <i>Bacillus</i> *	21	17,3%	21	17,3%	16	13,6%	58	48,0%
<i>Staphylococcus warneri</i>	15	12,3%	3	2,4%	4	3,3%	21	17,4%
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	5	4,1%	3	2,4%	4	3,3%	12	10,0%
<i>Staphylococcus xylosum</i>	2	1,6%	2	1,6%	3	2,4%	7	6,0%
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	2,4%	2	1,6%	0	0,0%	5	4,1%
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	0	0,0%	2	1,6%	3	2,4%	5	4,1%
<i>Staphylococcus urealyticum</i>	3	2,4%	0	0,0%	0	0,0%	3	2,4%
<i>Leclercia adenocarboxylata</i>	0	0,0%	3	2,4%	0	0,0%	3	2,4%
<i>Staphylococcus hominis</i>	2	1,6%	0	0,0%	0	0,0%	2	1,6%
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1	0,8%	0	0,0%	1	0,8%	2	1,6%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	0,8%	0	0,0%	0	0,0%	1	0,8%
<i>Staphylococcus intermedius</i>	0	0,0%	0	0,0%	1	0,8%	1	0,8%
<i>Streptococcus sanguis</i>	1	0,8%	0	0,0%	0	0,0%	1	0,8%
TOTAL	53	44,1%	36	29,3%	32	26,6%	121	100%

**Bacillus subtilis*, *B. coagulans*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. stearothermophilus*, *B. thermodenitrificans*, *B. circulans*, *B. firmus*, *Paenibacillus validus*, *P. macerans*.

TABELA II
Perfil de resistência dos isolados bacterianos de interesse médico frente aos antimicrobianos testados.

Antibiótico	<i>Staphylococcus coagulans</i> -negativa		<i>Enterobacter cloacae</i>		<i>Enterobacter sakazakii</i>		<i>Acinetobacter lwoffii</i>	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Ac. Nalidixico	*	*	1	20,0%	*	*	*	*
Azteonam	*	*	5	100%	2	100%	5	100%
Cefalotina	*	*	0	0,0%	1	50,0%	*	*
Ceftazidima	*	*	3	60,0%	1	50,0%	2	40,0%
Ceftriaxona	*	*	1	20,0%	*	*	*	*
Cefuroxima	*	*	3	60,0%	*	*	*	*
Clindamicina	8	17,0%	*	*	*	*	*	*
Eritromicina	19	40,4%	*	*	*	*	*	*
Gentamicina	3	6,3%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
Nitrofurantoína	4	8,5%	0	0,0%	0	0,0%	*	*
Norfloxacina	2	4,2%	0	0,0%	0	0,0%	*	*
Oxacilina	21	4,6%	*	*	*	*	*	*
Penicilina G	41	87,2%	*	*	*	*	*	*
Tetraciclina	14	29,7%	2	40,0%	1	50,0%	0	0,0%
Tobramicina	*	*	*	*	*	*	1	20,0%

*antimicrobianos não avaliados.

CONCLUSÕES

- A maioria das bactérias encontradas pertencem à microbiota ambiental e humana, não trazendo nenhum risco potencial para pessoas hígidas, porém podem ser potencialmente patogênicas para crianças hospitalizadas que geralmente se encontram imunocomprometidas.
- O teste de susceptibilidade às drogas demonstrou que a maioria das bactérias de interesse médico são sensíveis aos antimicrobianos testados e que 90% das bactérias são resistentes apenas a um ou dois antimicrobianos.
- Baseado nos resultados obtidos, o risco de os brinquedos causarem infecção cruzada é evidente, por isso os autores sugerem que medidas preventivas devam ser tomadas, como a limpeza e desinfecção dos brinquedos diariamente ou frequentemente, para prevenir que infecções hospitalares ocorram.

REFERÊNCIAS

1. Almeida, P. F.; Franca, M. P.; Santos, S. P.; Moreira, R. S.; Tunes, U. R. Streptococci microbiota associated with initial formation of dental plaque. R Ci Méd Biol 1: 33-41, 2002.
2. Avila-aguero, M. L. Toys in a pediatric hospital: are they a bacterial source? Am J Infec Control 32: 287-90, 2004.
3. Baron, E. J.; Tenover, F. C.; Pfaller, M. A.; Murray, P. R.; Tenover, R. H. Manual of Clinical Microbiology. 7 ed., New York: ASM, 2113, 1999.
4. Buttery, J. P.; Alabaster, S. J.; Heine, R. G.; Scott, S. M. Crutchfield, R. A.; Garland, S. M. Multi resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a pediatric oncology ward related to bath toys. Ped Infec Dis J 17: 509-13, 1998.
5. Butz, A. M.; Fosarelli, P.; Cusack, D. J.; Yolken, R. Prevalence of rotavirus on high-risk fomites in day-care facilities. Pediatrics 92: 202-205, 1992.
6. Cardoso, M. F.; Corrêa, L.; Medeiros, A. C. A higienização dos brinquedos no ambiente hospitalar. Prática Hospitalar 42: 29-42, 2005.
7. Davis, S. G.; Corbitt, A. M.; Everton, V. M.; Grano, C. A. are ball pits the playground for potentially harmful bacteria? Pedic Nurs 25: 151-155, 1999.
8. Duan, S. M.; Zhao, X. S.; Wen, R. F.; Huang, J. J.; Pi, G. H.; Zhang, S. X.; Han, J. Bi. Si.; Ruan, L.; Dong, X. P. Stability of SARS coronavirus in human specimens and environment and its sensitivity to heating and UV irradiation. Bio-medical and Environmental Science, 16: 246-255, 2003.
9. Foucault, M. Microfísica do Poder. 5ª ed., Rio de Janeiro: Graal, 101-103, 1985.
10. Garner, J. S.; Jarvis, W. R.; Emori, T. G.; Horan, T. C.; Hughes, J. H. CDC de-

- initions for nosocomial infections. *Am J Infect Control* 16: 128-40, 1998.
11. Haley, R. W. Cost-benefit analysis of infection control programs. In: BENNETT, J. V.; Brachman, P. S. *Hospital infection*. 4th ed., New York: Lippincott-Raven Publishers, p. 249-67, 1998.
 12. Islam, M. S.; Hossain, M. A.; Khan, S. I.; Khan, M. N.; Sack, R. B.; Albert, M. J.; Huq, A.; Colwell, R. R. Survival of *Shigella dysenteriae* type 1 on fomites. *J Hea Pop Nut* 19: 177-182, 2001.
 13. Lai, K. K. Enterobacter sakazakii infections among neonates, infants, children, and adults. *Medicine*, 80: 113-22, 2001.
 14. Mahl, M. C.; Sadler, C. Virus survival on inanimate surfaces. *Can J Microbiol* 21: 819-823, 1975.
 15. Mckay, I.; Gillespie, T. A. Bacterial contamination of children's toys used in a general practitioner's surgery. *Scot Med J*, 45: 12-3, 2000.
 16. Merriman, E. Toys are a potential source of cross-infection in general practitioners' waiting rooms. *Br J Gen Pract*, 52: 138-40, 2002.
 17. National Committee for Clinical Laboratory. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard – M2 – A8, ED 8, V. 23, 2003.
 18. Pannuti, C. S. A importância do meio ambiente hospitalar. In: Rodrigues EAC et al. *Infecções hospitalares: prevenção e controle*. São Paulo: Sarvier, p. 449-54, 1997.
 19. Rogers, M. Rotavirus outbreak on a pediatric oncology floor: Possible association with toys. *Am J Infect Control* 28: 378-80, 2000.
 20. Saviteer, S. M.; Samsa, G. P.; Rutala, W. A. Nosocomial infections in elderly: increased risk per hospital day. *Am J Med* 84: 661-6, 1988.
 21. Smalheiser, R. N. Bath Toys: A source of gastrointestinal infection. *New Eng J Med* 350: 521, 2004.
 22. Suviste, J. Infection control: the toy trap uncovered. *Nursing Times*, 92: 56-60, 1996.
 23. Van, R.; Morrow, A. L.; Reves, R. R.; Pickering, L. K. Environmental contamination in child day-care centers. *Am J Epidemiol* 133: 460-470, 1991.
 24. Van, A.; et al. Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with Enterobacter sakazakii in powdered milk formula. *J Clin Microbiol* 39:293-97, 2001.
 25. Virella, G. *Microbiology and infectious diseases*. 3ª ed., Baltimore, 575, 1997.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Carlos Henrique Gomes Martins –
 Universidade de Franca – Laboratório de Pesquisa em Microbiologia Aplicada
 Av: Dr. Armando Salles Oliveira, 201 Parque Universitário
 CEP. 14404-600 Franca - SP
 E-mail: martinsc@unifran.br

Vantagens em ser sócio da SBAC

A Sociedade Brasileira de Análises Clínicas apresenta pelo menos **04 importantes motivos** para que você se associe à ela, seja como profissional ou como empresa:

1. Criação de identidade corporativa

Associando-se à SBAC, o profissional de análises clínicas assume uma identidade corporativa em uma entidade ativa, capaz de representá-lo e que cuida de interesses comuns e pertinentes à área de saúde, e especificamente aos laboratórios clínicos e bancos de sangue, junto aos mais diversos órgãos (nacionais e internacionais, sejam governamentais ou não) que influenciam a atividade laboratorial, objetivando o crescimento e o desenvolvimento de todos, independente do seu tamanho ou localização.

2. Certificação profissional

A SBAC é a única entidade nacional autorizada a emissão do Título de Especialista em Análises Clínicas, titulação reconhecida pelo mercado e pelos profissionais como um importante diferencial competitivo. Como associado da SBAC, você terá direito à desconto exclusivo na inscrição do concurso TEAC.

3. Descontos no PNCQ

Ser sócio da SBAC também dá a oportunidade de desconto de 50% no mais importante programa de ensaios de proficiência para Laboratórios Clínicos e Bancos de Sangue do país, que auxilia e oferece opções para o aprimoramento da qualidade destas empresas, o Programa Nacional de Controle de Qualidade.

4. Atualização profissional

Ser sócio da SBAC dá ao profissional de laboratório uma série de oportunidades de atualização profissional científica e em gestão de laboratórios.

E para isso a SBAC possui vários instrumentos, com vantagens exclusivas para sócios:

- Como sócio da SBAC você recebe um exemplar de cada edição da Revista Brasileira de Análises Clínicas, RBAC, a partir de sua associação, sem nenhum custo.
- Como sócio da SBAC você também recebe um exemplar de cada edição do Jornal da SBAC trazendo as atualidades e notícias referentes à área e ao trabalho da SBAC em si, a partir de sua associação, sem nenhum custo.
- Descontos significativos na sua participação em cursos, seminários, eventos e congressos.

Finalmente, com tantos bons motivos, não há porque não ser sócio da mais importante entidade científica na área laboratorial do país.

Associe-se à SBAC

Mycoplasma hominis e *Ureaplasma* sp. em amostras do trato genitourinário e sua relação com sintomas de infecção genital

Mycoplasma hominis and *Ureaplasma* sp. in genitourinary specimens and their association with symptoms of genital infection

Gisele de Souza Avelar¹; Sonia Aparecida Sgarione Bertão²; Rubia Andreia Falleiros de Pádua²; Rosilene Fressatti Cardoso³ & Vera Lucia Dias Siqueira³

RESUMO - *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma* sp. são espécies de micoplasmas comensais pertencentes à microflora do trato genitourinário humano. No entanto, existem evidências do papel etiológico destas bactérias em diversas infecções. O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de *M. hominis* e *Ureaplasma* sp. em pacientes atendidos no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas de Maringá – PR e sua relação com sintomas de infecção genital. Amostras genitais de 1553 pacientes foram pesquisadas para micoplasmas e outros agentes comumente envolvidos em doenças sexualmente transmissíveis (DST). Positividade para micoplasma, em concentração clinicamente significativa, foi observada em 47,1% dos pacientes. O isolamento exclusivo de *M. hominis* ou *Ureaplasma* sp. foi observado em 36 (2,32%) e 536 (34,51%), respectivamente. Em 159 pacientes (10,24%) foram isoladas ambas as espécies. Da totalidade de mulheres estudadas, 1371 (94,5%) relataram sintoma de infecção genital e destas 678 (49,5%) apresentaram cultura positiva para micoplasma. A alta positividade de *M. hominis* e *Ureaplasma* sp. e a associação com sintomas de infecção genital, observada neste estudo, pode contribuir para evidenciar a importância destes microrganismos como agentes de infecção genital.

PALAVRAS-CHAVE - *Mycoplasma hominis*; *Ureaplasma* sp.; Infecção genital; Sintomas.

SUMMARY - *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma* sp. are commensal mycoplasma species present as microbial flora of human genitourinary tract. However, there are evidences that these species of mycoplasma have etiologic role in several infections. The objective of this study was to evaluate the occurrence of *M. hominis* and *Ureaplasma* sp. in patients attended in the Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC) of Maringá, Paraná and its association with symptoms of genital infection. Genital samples of 1553 patients were cultured for mycoplasmas and other commonly agents involved in sexually transmissible diseases (STD). Mycoplasmas in significant concentrations were isolated from 47,1% patients. The exclusive isolation of *M. hominis* or *Ureaplasma* sp. was obtained in 36(2.32%) and 536 (34.51%) patients, respectively. In 159 (10.24%) patients were isolated both species. From all female patients included in this study, 1371 (94.5%) had symptom of genital infection and 678 (49.5%) were positive culture for mycoplasmas. The high rate of *M. hominis* and *Ureaplasma* sp. detected and the association with symptoms of genital infection, observed in this study, can contribute for showing up the importance of these microorganisms as agents of genital infection.

KEYWORDS - *Mycoplasma hominis*; *Ureaplasma* sp.; Genital infections; Symptoms.

INTRODUÇÃO

Mycoplasma hominis e *Ureaplasma* sp. são micoplasmas que aparecem como verdadeiros comensais pertencentes à microflora dos tratos genitourinários masculinos e femininos, sendo prevalentes no trato genital de mulheres sexualmente ativas (Waites *et al.*, 2003). A presença destes microrganismos em indivíduos assintomáticos tem dificultado a aceitação destes como agentes responsáveis por doenças, no entanto, existem evidências de seu papel etiológico em diversas infecções. Alguns estudos já demonstraram a participação de *Ureaplasma* sp. na gênese de uretrites não-gonocócicas e não-clamídiadas em homens (McCormack, 1986; Taylor-Robinson *et al.*, 1985). *M. hominis* está entre os vários microrganismos que proliferam em pacientes com vaginose bacteriana (VB) e pode contribuir para esta condição (Hellberg *et al.*, 2001; Smayevsky *et al.*, 2001). *M. hominis* tem sido isolado do endométrio e tubas uterinas de aproximadamente 10% de mulheres com salpingite diagnosticada por laparoscopia (Waites *et al.*, 2003). A recuperação destes microrganismos em diversos sítios anatômicos de recém-nascidos, em embriões ou fluidos amnióticos, sugere que possa haver acometimento intra-uterino ou contaminação durante o parto, podendo ou não resultar em infecção (Nguyen *et al.*, 2004; Abdel-Haq

et al., 2002; Rao *et al.*, 2002; Wolthers *et al.*, 2003). O envolvimento de *M. hominis* e *Ureaplasma* sp. como agentes de cervicite é bastante controverso, porém estudo recente demonstrou uma importante associação entre achados urogenitais anormais relacionados a cervicite ou uretrite e o isolamento destes microrganismos (Schlicht *et al.*, 2004). O diagnóstico clínico da infecção genital por micoplasma é praticamente impossível de ser estabelecido, uma vez que não existe sintoma característico e, também, porque geralmente esses microrganismos estão envolvidos com patologias multicausais (Simões, 1999), tornando, desta forma, o diagnóstico laboratorial imprescindível. Por não possuírem parede celular, os micoplasmas não são visíveis em preparações coradas, especialmente o Gram, o que torna difícil o diagnóstico por técnicas de pesquisa direta do microrganismo. Devido à sua baixa atividade biossintética, os micoplasmas requerem meios de cultura complexos, constituídos por soros ricos em ácidos graxos e colesterol (Rodrigues *et al.*, 1999). O significado clínico do isolamento de micoplasma em cultura ou a diferenciação entre colonização e infecção de um sítio anatômico normalmente colonizado baseia-se no número de microrganismos isolados por mililitro de amostra biológica coletada, traduzido por UAC/mL (Unidades de Alteração de Cor por mL). Os critérios de avaliação, utiliza-

Recebido em 24/11/2006
Aprovado em 16/10/2007

¹Pós-graduanda Curso de Especialização em Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá – UEM; ²Farmacêutica Bioquímica do setor de Bacteriologia Clínica do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas – LEPAC da Universidade Estadual de Maringá – UEM; ³Docente da Disciplina de Bacteriologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá - UEM.

dos para analisar a relação entre o número de microrganismos isolados e seu papel no quadro clínico, dependem da amostra biológica estudada. De maneira geral são considerados significantes valores de concentração compreendidos entre 10^3 e 10^4 UAC/mL (Raddi *et al.*, 1989). Além da cultura, *M. hominis* e *Ureaplasma* sp. podem ser detectados por técnicas imunológicas, como as reações imunoenzimáticas (Elisa) e de biologia molecular, como a reação em cadeia da polimerase (PCR). Entretanto, estas técnicas apresentam-se menos viáveis para os laboratórios clínicos devido à complexidade metodológica e ao alto custo de implantação. Apesar das dificuldades de se correlacionar o isolamento de *M. hominis* e *Ureaplasma* sp. em amostras genitais e a etiologia de infecções neste sítio anatômico, a detecção destes microrganismos é de extrema importância, principalmente por estarem envolvidos em doenças graves, especialmente no recém-nascido. Estas espécies assumem papel importante mesmo quando envolvidos em doenças consideradas de menor gravidade, como as vaginoses e uretrites, levando-se em conta os desconfortos gerados, as possíveis complicações conseqüentes destes distúrbios e a possibilidade de transmissão sexual. A ocorrência de micoplasmas em amostras genitais constitui-se um problema de saúde pública gerando a necessidade de cuidados médicos e tratamento adequados. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência, em concentrações clinicamente significantes, de *M. hominis* e *Ureaplasma* sp. em pacientes atendidos no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC) da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, com solicitação médica de cultura para micoplasma e a sua relação com a presença de sintomas de infecção genital.

MATERIAL E MÉTODOS

O LEPAC apresenta-se como laboratório de referência para a cultura de micoplasma em pacientes atendidos pelo SUS e oriundos da 15ª Regional de Saúde do Estado do Paraná. Os princípios éticos que permearam este estudo se basearam na Resolução 196/96-CNS/MS das diretrizes e normas que regem pesquisa em seres humanos (Parecer 132/2005-COPEP-UEM). Todos os 1553 pacientes incluídos neste estudo foram encaminhados ao LEPAC com solicitação médica para realização de cultura específica para micoplasma (*M. hominis* e *Ureaplasma* sp.), com ou sem requisição para a realização de exames microbiológicos para detecção de outros agentes causadores de infecções genitais, no período compreendido entre janeiro de 2001 e dezembro de 2004. Pacientes do sexo feminino foram também submetidas a um questionário relacionado às condições sintomáticas (dor pélvica e corrimento vaginal) que as levaram a realizar este tipo de exame.

Para a pesquisa de micoplasma e *Neisseria gonorrhoeae* as amostras coletadas foram secreção cervical uterina, uretral masculina ou esperma. Para o isolamento de micoplasma as amostras clínicas, coletadas com swab estéril, foram introduzidas em meio de transporte específico (A₃x_b), de onde foram semeadas em ágar A₇ e incubadas por até 5 dias, em temperatura de 35°C e atmosfera contendo 5% de CO₂. A identificação das espécies de micoplasma estudadas foi realizada de acordo com a morfologia colonial de cada agente (Shepard & Lunceford, 1976). Amostras clínicas po-

sitivas em A₇ foram tituladas em meio líquido, MLA (Cunha *et al.*, 1987), para *M. hominis* e U₁₀ (Shepard, 1974) para *Ureaplasma* sp., visando a determinação da concentração de microrganismos por mililitro (mL) de amostra coletada, a qual foi expressa em UAC/mL. Foram considerados significantes valores $\geq 10^3$ UAC/mL para *M. hominis* e $\geq 10^4$ UAC/mL para *Ureaplasma* sp., conforme critérios de interpretação recomendados por Cunha *et al.* (2001). Para isolamento de *N. gonorrhoeae* as amostras clínicas foram semeadas diretamente em ágar Thayer-Martin (Thayer & Martin, 1966). *Trichomonas vaginalis*, leveduras e pseudohifas foram pesquisados por microscopia direta a fresco nas secreções vaginais e uretrais masculina. A microscopia de esfregaços, corados pelo Gram, de secreções vaginais, uretrais masculina e espermas, foi utilizada para avaliar a flora bacteriana e a presença de leucócitos. O diagnóstico de VB foi feito com base nos critérios padronizados por Amsel *et al.* (1983) e Nugent *et al.* (1991).

RESULTADOS

Dos pacientes estudados, 1451 eram do sexo feminino (93,43%) e 102 (6,57%) do sexo masculino. Positividade para micoplasma em concentrações significantes foi observada em 47,1% dos pacientes estudados. O isolamento exclusivo de *M. hominis* ou de *Ureaplasma* sp. foi observado em 36 (2,3%) e 536 (34,5%) pacientes, respectivamente. Em 159 pacientes (10,2%) foram isolados ambos agentes (Tabela 01).

Da totalidade de pacientes do sexo feminino que responderam o questionário, 1371 (94,5%) relataram algum sintoma de infecção no trato genital e destes 678 (49,5%) apresentaram cultura positiva para micoplasma em concentração clinicamente significativa (Fig. 01). Em 56 (8,3%) destas pacientes foi observado, ao exame microscópico do material clínico, um número aumentado de leucócitos e diminuído de bacilos de Döderlein, além de negatividade para os outros microrganismos pesquisados neste estudo.

Em todos os pacientes pesquisados não houve isolamento de *N. gonorrhoeae*. Das 1041 pacientes cuja secreção vaginal foi examinada (bacterioscopia e exame a fresco), 125 (12,0%) apresentaram cultura positiva para micoplasma associada com a presença de leveduras e/ou pseudohifas, *T. vaginalis* ou quadro clínico característico de VB (Fig. 02). Em relação as pacientes com VB observou-se que na maior parte (63,0%), *M. hominis* e *Ureaplasma* sp. foram isolados concomitantemente, já o isolamento exclusivo de *M. hominis* ou *Ureaplasma* spp foi observado em 11,1% e 25,9% das pacientes, respectivamente (Fig. 03).

TABELA I
Distribuição numérica das culturas positivas para cada espécie de micoplasma de acordo com o gênero dos pacientes.

Culturas positivas	Mulheres n (%)	Homens n (%)	Total n (%)
<i>Ureaplasma</i> sp.	522 (71,4)	14 (1,9)	536 (73,3)
<i>M. hominis</i>	35 (4,8)	01 (0,1)	36 (4,9)
Ambos	155 (21,2)	04 (0,6)	159 (21,8)
Total	712 (97,4)	19 (2,6)	731 (100)

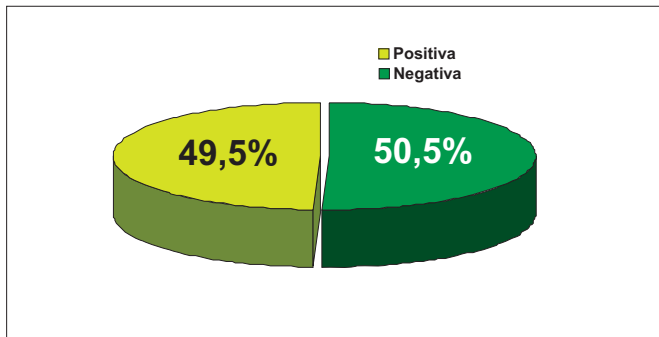


Figura 1 - Porcentagem de positividade das culturas para micoplasma em pacientes do sexo feminino que relataram algum sintoma relacionado à infecção do trato genital.

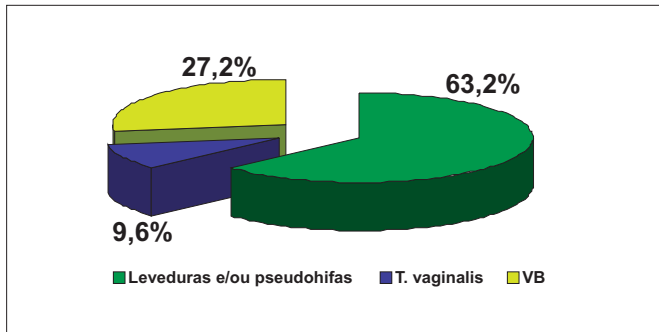


Figura 2 - Porcentagem de pacientes do sexo feminino com cultura positiva para micoplasma associada aos outros agentes de DST.

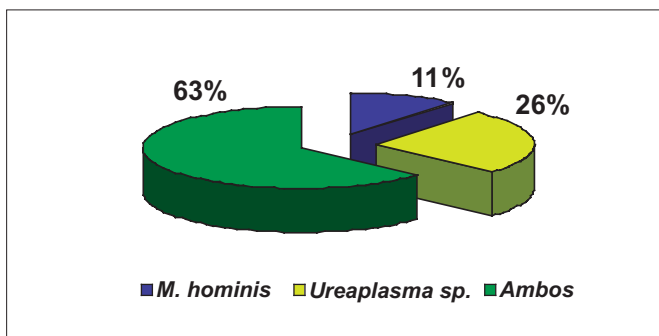


Figura 3 - Distribuição da porcentagem de amostras de secreção vaginal positivas para VB relacionada com cada espécie de micoplasma.

DISCUSSÃO

As altas taxas de isolamento de *M. hominis* e *Ureaplasma* sp. encontrada neste trabalho aliada aos achados de outros autores (Domingues *et al.*, 2003; Kiliç *et al.*, 2004; Martinelli *et al.*, 1999) reforçam os dados da comum ocorrência destes agentes no trato genital masculino e feminino em diferentes populações e em distintas regiões do mundo.

A maioria da população feminina em nosso estudo apresentava algum tipo de queixa relacionada a alterações no trato genital, provavelmente por se tratar de uma população amostral selecionada clinicamente. Metade desta população (49,6%) apresentou cultura positiva para micoplasma. Dibartolomeo *et al.* (2002) e Schlicht *et al.* (2004) trabalhando com pacientes apresentando alterações relacionadas ao trato genital, com ou sem grupos controles (grupos sem alteração), verificaram maior frequência de micoplasma nos indivíduos com alterações o que demonstra relação entre a presença de sintomas de infecção genital, particularmente cervicites e uretrites e o isolamento destes agentes. Em nosso estudo observamos ainda que a importância clínica de

M. hominis e *Ureaplasma* sp. foi mais evidente em algumas mulheres (8,3%) com sintomas de infecção do trato genital, uma vez que a presença aumentada de leucócitos e ausência ou diminuição do número de bacilos de Döderlein (dados não mostrados) foram observadas e nenhum outro microrganismo pesquisado foi detectado.

Micoplasmas, em especial *M. hominis*, têm sido frequentemente isolados de mulheres com VB (Rodríguez *et al.*, 2001). Entretanto, em nosso trabalho o isolamento das duas espécies simultaneamente foi mais frequente nestas pacientes. Em conclusão, a alta positividade das culturas para *M. hominis* e *Ureaplasma* sp. encontrada em nosso estudo, é um dado preocupante, já que estes microrganismos podem ser transmitidos sexualmente, tornando-se desta forma, um problema de saúde pública, principalmente por estarem implicados em diversos distúrbios do trato genital.

REFERÊNCIAS

1. ABDEL-HAQ, N.; ASMAR, B.; BROWN, W. Mycoplasma hominis scalp abscess in the newborn. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, v.21, n.12, p. 1171-1173, 2002.
2. AMSEL, R.; TOTTEN, P.A.; SPIEGEL, C.A.; CHEN, K.C.; ESCHENBACH, D.; HOLME, K.K. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am. J. Med.*, v. 74, n.1, p. 14-22, 1983
3. CUNHA, R.A.F.; CORDOVA, C.M.M.; BRUDER, J.; GODRY, R.C. Micoplasmas e as doenças humanas. Curso de treinamento realizado online. Disponível em <http://saudetotal.com/microbiologia/protegidos/cvmicopl.htm>. Liberado para consulta em 03.07.2001.
4. CUNHA, R.A.F.; TAKIMOTO, S.; TAKEI, K. Modificação e padronização de meios de transporte e cultivo de micoplasmas genitais Mycoplasma hominis e Ureaplasma urealyticum. *Rev. Farm. Bioq. USP*, v. 23, n. 2, p. 170-177, 1987.
5. DIBARTOLOMEO, S.; FERMEPIN, M.R.; SAUKA, D.H.; TORRES, R.A. Prevalencia de microorganismos asociados a secreción genital femenina, Argentina. *Rev. Saúde Publica*, v. 36, n. 5, p. 545-552, 2002.
6. DOMINGUES, D.; TAVIRA, L.T.; DUARTE, A.; SANCA, A.; PRIETO, E.; EXPOSTO, F. Genital mycoplasmas in women attending a family planning clinic in Guiné-Bissau and their susceptibility to antimicrobial agents. *Acta Tropica*, v. 86, p. 19-24, 2003.
7. HELLBERG, D.; NILSSON, S.; MÅRDH, P.A. The diagnosis of bacterial vaginosis and vaginal flora changes. *Arch. Gynecol. Obstet.*, v. 265, p. 11-15, 2001.
8. KILIÇ, D.; BASAR, M.M.; KAYGUSUZ, S.; YILMAZ, E.; BASAR, H.; BATISLAM, E. Prevalence and treatment of Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, and Mycoplasma hominis in patients with non-gonococcal urethritis. *Jpn. J. Infect. Dis.*, v. 57, p. 17-20, 2004.
9. McCORMACK, W.M. Ureaplasma urealyticum: ecologic niche and epidemiologic considerations. *Pediatr. Infect. Dis.*, v. 5 (6 Suppl), p. S232-233, 1986.
10. MARTINELLI, F.; GARRAFA, E.; TURANO, A.; CARUSO, A. Increased frequency of detection of Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma genitalium in AIDS patients without urethral symptoms. *J. Clin. Microbiol.*, v. 37, n. 6, p. 2042-2044, 1999.
11. NUGENT, RP; KROHN MA, HILLIER SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J. Clin. Microbiol.*, v. 29, p. 297-301, 1991.
12. NGUYEN, D.P.; GERBER, S.; HOHLFELD, P.; SANDRINE, G.; WITKIN, SS. Mycoplasma hominis in mid-trimester amniotic fluid: relation to pregnancy outcome. *J. Perinat. Med.*, v. 32, n. 4, p. 323-326, 2004.
13. RADDI, M.S.G.; ROSSI, R.; MOREIRA, S.I. Estudo comparativo do espermograma em portadores e não portadores de Ureaplasma urealyticum no líquido seminal. *Rev. Bras. Patol. Clin.*, v. 25, n. 1, p. 10-13, 1989.
14. RAO, R.P.; GHANAYEM, N.S.; KAUFMAN, B.A.; KEHL, K.S.; GREGG, D.C.; CHUSID, M.J. Mycoplasma hominis and Ureaplasma species brain abscess in a neonate. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, v. 21, n. 11, p. 1083-1085, 2002.
15. RODRIGUES, A. O.; PEREIRA, R. P.; HARA, M. Micoplasma e trato genital feminino. *J. Bras. Med.*, v.77, n. 2, p. 40-43, 1999.
16. RODRIGUEZ, R.; HERNANDEZ, R.; FUSTER, F.; TORRES, A.; PRIETO, P.; ALBERTO, J. Genital infection and infertility. *Enf. Infect. Microbiol. Clin.*, v.

- 19, n. 6, p. 261-269, 2001.
17. SCHLICHT, M. J.; LOVRICH, S.D.; SARTIN, J.S.; KARPINSKY, P.; CALLISTER, S. M.; AGGER, W. A. High prevalence of genital Mycoplasmas among sexually active young adults with urethritis or cervicitis symptoms in la Crosse, Wisconsin. *J. Clin. Microbiol.*, v. 42, n.10, p. 4636-4640, 2004.
18. SHEPARD, M.C. Standard fluid medium U10 for cultivation and maintenance of *Ureaplasma urealyticum*. *Intern. J. Systematic Bacteriol.*, v. 24, p. 160-171, 1974.
19. SHEPARD, M.C.; LUNCEFORD, C.D. Differential Agar Medium (A7) for Identification of *Ureaplasma urealyticum* (Human T Mycoplasmas) in Primary Cultures of Clinical Material. *J. Clin. Microbiol.*, v. 3, n.6, p. 613-625, 1976.
20. SIMÕES, J. A. O papel dos micoplasmas nas infecções genitais femininas. *Rev. Atualiz. Ginecol. Obstet.*, v. 8, n. 9, p. 30-37, 1999.
21. SMAYEVSKY, J.; CANIGIA, L.F.; LANZA, A.; BIANCHINI, H. Vaginal microflora associated with bacterial vaginosis in nonpregnant women: reliability of sialidase detection. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.*, v. 9, n. 1, p. 17-22, 2001.
22. TAYLOR-ROBINSON, D.; FURR, P.M.; WBSTER, A. D. *Ureaplasma urealyticum* causing persistent urethritis in a patient with hypogammaglobulinaemia. *Genitourinary Med.*, v. 61, n. 6, p. 404-408, 1985.
23. THAYER, J.D.; MARTIN, J.E.Jr. Improved medium selective for cultivation of N.

- gonorrhoeae and N. meningitidis, *Public Health Rep.*, v. 81, n. 6, p. 559-562, 1966.
24. WAITES, K.B.; RIKIHISA, Y.; TAYLOR-ROBINSON, D. *Mycoplasma and Ureaplasma*. In: MURRAY, P.R. (Ed.). *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington, DC: ASM Press, 2003.p. 972-990.
25. WOLTERS, K.C.; KORNELISSE, R.F.; PLATENKAMP G.J.J.M.; SCHUURMAN-VAN DER LEM, M.I.; VAN DER SCHEE, C.; HARTWIG, N.G.; VERDUN, C.M. A case of *Mycoplasma hominis* meningo-encephalitis in a full-term infant: rapid recovery after start of treatment with ciprofloxacin. *Eur. J. Pediatr.*, v.162, n. 7-8, p:514-516, 2003.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Vera Lucia Dias Siqueira
 Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas.
 Av. Colombo, 5790
 CEP: 87020-900 Maringá – PR
 Tel.: (44) 3261-4825
 Email: vldsiqueira@uem.br

IFCC WorldLab 2008

20th International Congress of Clinical Chemistry
 35^o Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
 8^o Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

28 de setembro a 02 de outubro 2008
 Fortaleza - CE - Brasil



*Sociedade
 Brasileira de
 Análises
 Clínicas*

A SBAC facilita para você ir ao maior congresso mundial de Análises Clínicas.

Promoção de Aniversário
*Inscrições a R\$ 400,00 até 31 de março.
 Corra e aproveite!*

Maiores informações:
 21 2187-0800 - geral@sbac.org.br - www.sbac.org.br

Atividade antibacteriana de extrato de gervão frente cepas de *Staphylococcus aureus* oxacilina-sensíveis e oxacilina-resistentes isoladas de amostras biológicas*

Antibacterial activity of gervão extract against *Staphylococcus aureus* oxacillin-sensible and oxacillin-resistant strains isolated from biological samples

Luiz Mário da Silva Silveira¹; Luzilene Sousa Rosas²; Roberto Sigfrido Gallegos Olea³; Eliezer Carneiro Gonçalves¹ & Deurival Coelho da Fonseca Júnior³

RESUMO - Gervão (*Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl) é uma planta pertencente à família Verbenaceae amplamente utilizada na medicina popular no município de Buriticupu-MA no tratamento das lesões leishmanióticas. Essas lesões geralmente vêm acompanhadas de infecção bacteriana secundária, porém a literatura não registra o efeito desta planta sobre bactérias. Este trabalho investiga a atividade antibacteriana do gervão coletada em Buriticupu – MA. O extrato bruto hidroalcoólico (EBH) obtido de partes aéreas da planta foi submetido a avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* oxacilina-sensíveis e oxacilina-resistentes. A atividade antibacteriana foi avaliada através da técnica de difusão com disco e diluição em caldo. O EBH apresentou halo de inibição até a concentração de 12,5 mg/mL. A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) para o EBH se deram frente às cepas de *Staphylococcus aureus*. O EBH apresentou CIM variando de 0,4 a 1,6 mg/mL e CBM de 1,6 a 12,5 mg/mL. Os resultados indicam que a planta tem moderada atividade antibacteriana.

PALAVRAS-CHAVE - Gervão; *Stachytarpheta cayennensis*; Atividade antibacteriana.

SUMMARY - Gervão (*Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl.), from Verbenaceae family, has been extensively used in the folk medicine in leishmanial lesions treatment. Leishmanial lesions usually come along with secondary bacterial infection. Nevertheless, its antibacterial effect has not been published. This work reports the antibacterial activity of gervão aerial parts collected in Buriticupu-MA. The hydroalcoholic extract was submitted to *in vitro* antibacterial evaluation against *Staphylococcus aureus* oxacillin-sensible and oxacillin-resistant strains. The results indicated antibacterial effect of the hydroalcoholic extract against the microorganisms tested evaluated by agar disk diffusion and macrodilution methods. The lower concentration that produced inhibition zone was 12.5 mg/mL. The minimal inhibitory concentration ranged from 0.4 to 1.6 mg/mL and the minimal microbicidal concentration ranged from 3.1 to 12.5 mg/mL. The results indicated moderated antibacterial activity for *Stachytarpheta cayennensis*.

KEYWORDS - *Stachytarpheta cayennensis*. Gervão. Antibacterial activity.

INTRODUÇÃO

As plantas representaram, durante séculos, a única fonte de agentes terapêuticos para o homem. No início do século XIX, com o desenvolvimento da química farmacêutica, as plantas passaram a representar a primeira fonte de substâncias para o desenvolvimento de medicamentos.

A procura por tratamentos fitoterápicos por parte da população apresenta um crescimento considerável, o que torna necessário uma investigação científica das plantas utilizadas na cura e prevenção de doenças.

De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) cerca de 60 a 80 % da população mundial não tem acesso ao atendimento primário de saúde e recorre à medicina tradicional, especialmente às plantas medicinais, na procura de alívio para muitas doenças. A própria OMS não só reconhece como também estimula o uso de plantas medicinais pela população de países pobres².

Tem sido registrado na literatura um grande número de plantas com atividade antibacteriana^{1,4,14,15}. A espécie vegetal *Stachytarpheta cayennensis*, conhecida popularmente como gervão, é uma planta utilizada no município de Buriticupu, no estado do Maranhão, como cicatrizante em úlceras causadas por leishmaniose¹⁰. Todavia, ainda não se tem informação do papel desta planta sobre bactérias que frequentemente acometem estas lesões.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta, identificação do material vegetal e preparação do extrato
Partes aéreas de *Stachytarpheta cayennensis* (gervão) foram coletadas no município de Buriticupu – MA em março de

2003. A identificação do material vegetal foi feita no Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém-PA. Uma exsiccata da espécie vegetal encontra-se depositada no Herbário Ático Seabra - Universidade Federal do Maranhão, sob o número 1.081.

As partes aéreas da planta foram secadas em local fresco e arejado, à temperatura ambiente. Após a secagem foram colocadas em estufa a 40° C, por 24 horas. Em seguida trituradas em moinho elétrico.

O extrato bruto hidroalcoólico (EBH) da planta foi obtido a partir da maceração a frio de 600 g de pó em solução hidroalcoólica 70 %. Após a extração, o extrato foi concentrado sob pressão reduzida.

Parte do EBH preparado foi submetido à esterilização sob calor úmido à temperatura de 121° C, a 1 atm, durante 15 minutos.

Preparação dos discos

Discos de papel de filtro (papel Whatman nº 1) de 10 mm foram preparados. O extrato da planta foi impregnado no disco nas concentrações de 6,25, 12,5, 25,0 e 50,0 mg/mL.

Microrganismos utilizados

Foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus* oxacilina-sensíveis (OSSA) e oxacilina-resistentes (ORSA) pertencentes à bacterioteca do Laboratório Central de Saúde Pública do Maranhão (LACEN-MA), denominadas cepas LAC, e cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC (25923).

Meios de cultura utilizados

Para o crescimento e manutenção das culturas bacterianas empregou-se o ágar Mueller-Hinton (Merck). Este meio de cultivo foi utilizado na preparação das placas para os ensaios de difusão em ágar.

Recebido em 03/01/2007

Aprovado em 16/10/2007

*Trabalho realizado no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Farmácia (UFMA).

¹Professores do Departamento de Farmácia (UFMA). ²Mestre em Saúde e Ambiente (UFMA).

³Professor do Departamento de Química (UFMA). ⁴Aluno de graduação do Curso de Farmácia (UFMA).

Para a preparação dos inóculos das cepas bacterianas utilizadas e o teste de diluição em caldo foi empregado o *brain heart infusion broth* (caldo BHI) (Merck).

Preparação dos inóculos de microrganismos utilizados nos ensaios

Os inóculos dos microrganismos foram preparados com cerca de 10^6 unidades formadoras de colônia (UFC) por mL, equivalente a turvação 0,5 da escala padrão de MacFarland^{7,12}.

Método de difusão em ágar com disco

O ágar fundido foi colocado em uma placa de Petri estéril de 90 mm; após a solidificação fez-se o *swab* do microrganismo. Em seguida, colocou-se o disco impregnado com a amostra sobre a superfície do ágar solidificado. Após o período de incubação de 18-24 horas, a uma temperatura de 37° C, mediu-se a zona de inibição ao redor do disco^{8,9,11}. As amostras ensaiadas foram solubilizadas em metanol.

Como controle negativo utilizou-se o metanol impregnado em disco. Como controle positivo foi utilizado disco de clo-ranfenicol (Biolab) na concentração de 30 µg/disco e oxacilina (Biolab) na concentração de 1µg /disco. Os testes foram feitos em duplicatas e em dias diferentes.

Método de diluição em caldo

Este método foi utilizado para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) das amostras bioativas, realizada através de diluições seriadas na razão 1:2, empregando 2 mL de caldo BHI. Foram utilizados dois grupos controles, positivo e negativo, respectivamente, formado pelo meio de cultura (caldo BHI) acrescido de 2 µL das suspensões microbianas, e deste meio de cultura sem a adição do inoculo^{11,12}.

As amostras foram solubilizadas em solução de dimetilsulfóxido (DMSO) 25%. Devido a intensidade na cor do material analisado, o que alterava a coloração do meio, dificultando a leitura visual dos resultados, foi adicionado 0,2 mL de cloridrato trifeniltetrazólio (CTT) 2%¹³.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A pesquisa de produtos a partir de fonte vegetal tem sido considerada uma das fontes mais promissoras de obtenção de novos princípios bioativos. Um grande número de plantas, inclusive as pouco conhecidas, é utilizado há muito tempo na medicina popular, quer seja nos países pobres quanto nos países desenvolvidos. É consenso que a necessidade de introdução de novos compostos bioativos no arsenal terapêutico com efeito antimicrobiano é absoluto, devido principalmente ao aparecimento de formas bacterianas resistentes, decorrente, sobretudo, do uso indiscriminado dos quimioterápicos antimicrobianos.

Diante do reconhecimento da propriedade leishmanicida de gervão¹⁶, e principalmente pelo uso da planta diretamente nas lesões dos indivíduos doentes, foram realizados testes *in vitro* para que fosse avaliada a atividade antibacteriana de partes aéreas da planta.

O extrato bruto da planta apresentou inibição ao crescimento bacteriano conforme mostrado na Tabela 1.

Na técnica de difusão em ágar com disco o EBH do gervão foi inicialmente utilizado na concentração de 50,0 mg/mL. O

EBH, quando avaliado em concentrações menores, apresentou atividade antibacteriana até a concentração de 12,5 mg/mL. Para tal atividade não foi encontrado registro na literatura.

De acordo com o estabelecido acima, se pode observar comportamento diverso para as cepas bacterianas testadas; entretanto, as cepas ORSA (LAC-02 e LAC-06) foram as que apresentaram maiores zonas de inibição, mesmo em concentrações menores.

Como parâmetro de resistência foi utilizado discos de oxacilina na concentração de 1 µg/disco, a fim de se diferenciar cepas de *Staphylococcus aureus* oxacilina-sensíveis daquelas oxacilina-resistentes. A escolha da oxacilina foi por esta ser melhor que a metilicina na determinação de padrão de resistência para *Staphylococcus aureus*³.

A literatura tem mostrado um aumento na morbidade e mortalidade causadas por infecções estafilocócicas³. *Staphylococcus aureus* é um patógeno humano Gram-positivo de crescente importância como resultado do aumento da resistência bacteriana. Devido sua adaptabilidade e resistência ao estresse ambiental, este patógeno pode sobreviver bem fora do hospedeiro⁵.

O aumento crescente de ORSA e a possibilidade de cepas resistentes à vancomicina tornam necessária a busca de novas fontes potenciais de substâncias com atividade antibiótica. Analisando os resultados obtidos no método de difusão em ágar foi observado que o EBH de partes aéreas de gervão apresentou atividade antibacteriana contra cepas de *Staphylococcus aureus*, inclusive para ORSA, embora esta atividade através da expressão da zona de inibição tenha ocorrido em concentrações elevadas em se tratando de planta de valor medicinal.

A prevalência de microrganismos em lesões leishmanióticas é relatada por Vera *et al.*¹⁷, onde foi observada a ocorrência de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactae*) e Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter koseri*), sendo que o *Staphylococcus aureus* foi à espécie bacteriana mais frequentemente isolada (59,5 %). Dessa forma, parece viável a utilização da planta em úlceras leishmanióticas para a profilaxia e/ou tratamento de infecções secundárias por *Staphylococcus aureus*.

O método de diluição em caldo foi aplicado para a obtenção dos valores de CIM e CBM. A CIM foi considerada como a menor concentração da amostra onde não se observou a formação de coloração vermelha quando da adição de CTT 2 %. Este reagente foi utilizado em virtude da dificuldade que se tem na visualização de turvação do meio quando se empregam extratos, ou mesmo frações que, via de regra, são intensamente corados. A CBM foi determinada pelo subcultivo de 10 µL de cada tubo negativo e do tubo de crescimento positivo. A CBM foi definida como a menor concentração que forneceu placas com subcultivo negativo ou apenas uma colônia.

Avaliando-se a potencialidade do EBH frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, foi feita a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) para o EBH. Os resultados destes ensaios estão expressos na Tabela 2.

O potencial de atividade antibacteriana de um extrato de planta pode ser determinado a partir dos seus valores de

CIM. Holetz *et al.*⁶ estabeleceram que a atividade de uma planta é considerada quando esta apresenta valor de CIM menor que 1,0 mg/mL. As cepas ATCC, LAC-03 e LAC-06 apresentaram valores de CIM abaixo de 1,0 mg/mL, enquanto as demais apresentaram valores de concentração inibitória elevada, o que poderia resultar em efetividade antibacteriana nula.

Embora este trabalho tenha investigado a atividade antibacteriana *in vitro*, os resultados substanciam o uso etnofarmacológico da planta nas úlceras leishmanióticas, com a vantagem de que constituintes dessa planta possam desenvolver ação antibacteriana útil, sobretudo em cepas de *Staphylococcus aureus*, e assim ajudar no combate às infecções bacterianas secundárias, comuns nestes tipos de úlceras.

A comprovação laboratorial do EBH quanto ao seu potencial antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* permitiu ampliar as informações a respeito da aplicação e utilização de plantas no tratamento de doenças infecciosas. Para *Stachytarpheta cayennensis*, este trabalho serve de referência, em termos de atividade antibacteriana, abrindo caminho a novas pesquisas científicas, principalmente na busca de formas de aplicação dessa espécie em tratamento de doenças infecciosas, reforçando a necessidade de contínuo estudo em plantas da flora brasileira.

A utilização de plantas no tratamento de doenças é uma prática muito comum, principalmente nos países subdesenvolvidos, onde a população de baixa renda não tem acesso imediato ao serviço de saúde pública. A avaliação da atividade antibacteriana do extrato bruto hidroalcoólico de partes aéreas de gervão mostrou que este extrato possui atividade frente às cepas de *Staphylococcus aureus*. Com base no valor de CIM obtido, o potencial de inibição bacteriana observado foi apenas moderado. Todavia, essa planta, para uso popular, pode ser empregada como auxílio no combate de bactérias comuns em infecções secundárias.

TABELA I

Atividade antibacteriana do EBH de partes aéreas de gervão pela técnica de difusão com disco frente às cepas de *Staphylococcus aureus*, nas concentrações de 6,25, 12,5, 25 e 50 mg/mL.

Microrganismos	Tipo	EBH (mg/mL)				CLO	OXA
		50	25	12,5	6,25		
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC	19,3 ± 3,2	15,5 ±	14,5 ±	-	24,0 ±	26,0 ± 0,0*
<i>S. aureus</i>	LAC-01	24,0 ± 0,0	18,0 ±	14,5 ±	-	11,5 ±	11,0 ± 0,0**
<i>S. aureus</i>	LAC-02	20,0 ± 0,0	20,0 ±	19,0 ±	-	11,0 ±	12,5 ± 2,1**
<i>S. aureus</i>	LAC-03	21,0 ± 0,0	17,5 ±	17,0 ±	-	25,0 ±	24,5 ± 2,1*
<i>S. aureus</i>	LAC-04	21,5 ± 0,7	16,0 ±	14,5 ±	-	25,5 ±	24,0 ± 0,0*
<i>S. aureus</i>	LAC-05	18,5 ± 0,7	18,5 ±	17,5 ±	-	11,0 ±	11,5 ± 0,7**
<i>S. aureus</i>	LAC-06	20,0 ± 0,0	20,0 ±	20,0 ±	-	11,0 ±	12,0 ± 0,0**

(-) não houve halo de inibição; CLO – cloranfenicol (30 µg/disco); OXA – oxacilina (1 µg/disco). Diâmetro do disco com extrato – 10 mm; diâmetro dos discos de CLO e OXA – 6 mm. * Cepas OSSA. ** Cepas ORSA. Os dados mostrados estão em média ± desvio padrão de dois experimentos e cada experimento duas replicatas.

TABELA II

Concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima do EBH de partes aéreas de *Stachytarpheta cayennensis* pelo método de diluição em caldo modificado.

Microrganismos	Tipo	EBH (mg/mL)	
		CIM	CBM
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	0,4	1,6
<i>S. aureus</i>	LAC-01	1,6	12,5
<i>S. aureus</i>	LAC-02	1,6	12,5
<i>S. aureus</i>	LAC-03	0,8	6,2
<i>S. aureus</i>	LAC-04	1,6	6,2
<i>S. aureus</i>	LAC-05	1,6	12,5
<i>S. aureus</i>	LAC-06	0,8	3,1

Os dados mostrados são resultantes de dois experimentos e cada experimento duas replicatas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro. Ao LACEN-MA por fornecer as cepas bacterianas empregadas neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- Bonjar, G.H.S. Antibacterial screening of plants used in Iranian folkloric medicine. *Fitoterapia*, 75:231-235, 2004.
- Calixto, J.B.; Yunes, R.A. Plantas Medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos, 2001.
- Farias, W.V.L.; Sader, H.S.; Leme, I.L. et al. Padrão de sensibilidade de 117 amostras clínicas de *Staphylococcus aureus* isoladas em 12 hospitais. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 43(3):199-204, 1997.
- Fleischer, T.C.; Ameade, E.P.K.; Mensah, M.L.K. et al. Antimicrobial activity of the leaves and seeds of *Bixa orellana*. *Fitoterapia*, 74:136-138, 2003.
- Hecker, M.; Engelmann, S.; Cordwell S. Proteomics of *Staphylococcus aureus* – current state and future challenges. *Journal of Chromatography B*, 787:179-195, 2003.
- Holetz, F.B.; Pessini, G.L.; Sanches, N.R. et al. Screening of plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(7):1027-1031, 2002.
- Koneman, E.W.; Allen, S.D.; Janda, W.M. et al. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001. 1456p.
- Mazumder, A.; Mahato, A.; Mazumder, R. Antimicrobial potentiality of *Phyllanthus amarus* against drug resistant pathogens. *Natural Products Research*, 20(4):323-6, 2006.
- Moreira, R.C.R.; Rebelo, J.M.M.; Gama, M.E.A. et al. Nível de conhecimento sobre Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e uso de terapias alternativas por população de uma área endêmica da Amazônia do Maranhão, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 18(1): 187-195, 2002.
- Nakamura, C.V.; Ueda-Nakamura, T.; Bando, E. et al. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94(5):675-678, 1999.
- NCCLS-National Committee for Clinical Laboratory Standards 2000. Methods for Dilution antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Wayne, Pa.
- Ramírez, A.; Gutiérrez, R.; Díaz, G. et al. High-performance thin-layer chromatography-bioautography for multiple antibiotic residues in cow's milk. *Journal of Chromatography B*, 784(2):315-322, 2003.
- Sato, Y.; Suzuki, S.; Nishikawa, T. et al. Phytochemical flavones isolated from *Scutellaria barbata* and antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 72: 483-488, 2000.
- Somchit, M.N.; Reezal, I.; Elysha Nur, I. et al. In vitro antimicrobial activity of ethanol and water extracts of *Cassia alata*. *Journal of Ethnopharmacology*, 84:1-4, 2003.
- Sousa, R.C.R.M. Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) na Amazônia do Maranhão-Brasil: nível de conhecimentos e uso de terapêuticas alternativas em populações rurais [Dissertação de Mestrado]. São Luís: Universidade Federal do Maranhão UFMA; 2001.
- Vera, L.A.; Santos, J.B.; Macedo, V.O. et al. Avaliação da infecção bacteriana secundária na evolução da leishmaniose cutânea em Corte de Pedra, Bahia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34(3):233-237, 2001.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Luiz Mário da Silva Silveira
Rua 2 Q 5 C5 Residencial Itaguara II - Cohatrac
CEP. 65050-100 São Luís - MA
E-mail: luizmariosilveira@yahoo.com.br

PRÊMIO SBAC

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

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

II - DOS OBJETIVOS

O Prêmio SBAC tem por objetivos;

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

III - DA PARTICIPAÇÃO

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

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

- 1) A Comissão Julgadora será composta de pelo menos 05 (cinco) membros no-meados 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

Suscetibilidade à novobiocina na identificação de amostras de *Staphylococcus coagulase negativos* (SCoN) isolados de hemoculturas*

Susceptibility to the novobiocin in the identification of isolates of *Staphylococcus coagulase negative* (SCoN) isolated from blood cultures

Pedro A. d'Azevedo^{1,2}; Alinne G. de Souza¹; Anderson F. Santos¹; Tiago Sales³; Tomas Chagas Neto⁴ & Antonio C. Pignatari¹

RESUMO - Tradicionalmente o Laboratório de Microbiologia Clínica utiliza a prova de suscetibilidade a novobiocina para distinguir as espécies clinicamente significativas de SCoN, entre elas o *Staphylococcus saprophyticus*. Devido ao aumento destes microrganismos nas infecções relacionadas à assistência à saúde, este estudo teve como objetivo relatar duas bacteremias por SCoN resistentes a novobiocina ocorridas em maio e setembro de 2006, em um hospital geral, na cidade de São Paulo. Primeiramente o teste fenotípico apontou resistência a novobiocina, mas com padrões distintos de identificação ao *S. saprophyticus*. Na identificação convencional, as amostras fermentaram trealose, manitol e manose, sendo positivas nos testes da urease e fosfatase alcalina. No sistema semi-automatizado, a confirmação da espécie apontou o *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticus* com 99,99% de probabilidade. No teste de disco difusão, os isolados mostraram-se resistentes à oxacilina, mas suscetível a cefoxitina, vancomicina e teicoplanina. Houve confirmação pela metodologia do Etest® mostrando CIM para oxacilina superior a 256 µg/ml, e suscetibilidade a vancomicina e a teicoplanina. A reação da PCR confirmou a presença do gene *mecA* nos isolados. Estes dados demonstram a importância dos SCoN isolados em hemoculturas, sendo necessária uma correta identificação destes microrganismos.

PALAVRAS-CHAVE - novobiocina, resistência bacteriana, *Staphylococcus coagulase negativos*, *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticus*.

SUMMARY - Traditionally the Laboratory of Clinical Microbiology uses the susceptibility test to the novobiocin to distinguish the clinically significant species from SCoN, between them the *Staphylococcus saprophyticus*. Due to the increase of these microorganisms in the infections related to the health assistance, this study had as objective to relate two cases of bacteremia for SCoN novobiocin resistant occurred in May and September of 2006, in a general hospital, in the city of São Paulo. First the phenotypic test pointed resistance to the novobiocin but with different patterns of identification the *S. saprophyticus*. In the conventional identification, the isolates had leavend trealose, manitol and manose, being positive in the tests of urease and fosfatase alkaline. In the half-automatized system, the confirmation of the species pointed the *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticus* with 99.99% of probability. In the disk-diffusion test, the isolates had showed resistance to the oxacilin, but susceptibility to the cefoxitin, vancomicin and teicoplanin. The MIC from oxacilin showed more than 256µg/ml, and susceptibility to the vancomicin and teicoplanin. The PCR reaction confirmed the presence of the *mecA* gene in the isolates. These data demonstrate the importance of the SCoN isolates in blood cultures, being necessary a correct identification of these microorganisms.

KEYWORDS - novobiocin, bacterial resistance, coagulase-negative staphylococci, *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticus*.

INTRODUÇÃO

Antigamente, os *Staphylococcus coagulase negativos* (SCoN) eram considerados contaminantes de pouca importância clínica. Entretanto, durante as últimas décadas, esses microrganismos foram reconhecidos como importantes agentes etiológicos das bacteremias hospitalares. Embora tenham sido descritas várias espécies diferentes de SCoN, relativamente poucas delas produzem infecções em humanos. Entretanto, como um maior número de laboratórios tem tentado identificar SCoN, cada vez mais estão sendo reconhecidos infecções causadas por essas espécies (Bannerman, 2003).

Os *Staphylococcus coagulase negativos* são os microrganismos mais frequentemente isolados de hemoculturas. Apesar de muitas vezes se tratar de um contaminante (pseudo-bacteremia), é uma das principais causas de bacteremia verdadeira (Rupp & Archer, 1994; Marshall *et al.*, 1998). Das infecções associadas aos SCoN estão: infecções urinárias, infecções associadas a dispositivos permanentes, bacteremia em hospedeiros comprometidos, receptores de transplante, endocardite, osteomielite, endoftalmite, dentre outras (Rupp & Archer, 1994; Kloss & Bannerman, 1999). A multiresistência aos antimicrobianos é uma das princi-

pais características observadas entre amostras hospitalares de SCoN, destacando-se a resistência à metilicina. Em termos clínicos, cepas de SCoN resistentes à metilicina (oxacilina) são problemáticas porque esses microrganismos vão apresentar resistência cruzada a virtualmente todos os β-lactâmicos e também à outras classes de agentes antimicrobianos. Em relação ao laboratório clínico, a resistência à oxacilina entre SCoN também é preocupante porque os isolados de estafilococos podem variar no seu nível de expressão fenotípica da resistência. Isolados que expressam baixos níveis de resistência, ou seja, apresentam um caráter de heteroresistência à oxacilina, podem ser difíceis de caracterizar. Os SCoN resistentes à oxacilina produzem uma proteína ligadora de penicilina chamada PBP'2 ou 2^a, com baixa afinidade em relação aos β-lactâmicos. O gene que codifica esta proteína modificada é o gene *mecA*. (De Giusti *et al.*, 1999; Caierão *et al.*, 2004).

Devido a problemática atual na identificação das espécies e detecção da resistência à oxacilina entre amostras de SCoN, estudos que definam técnicas com maior sensibilidade e especificidade, além de praticidade e rapidez, são de grande interesse para o diagnóstico clínico-laboratorial e para o controle de infecções relacionadas à assistência à saúde (Caierão *et al.*, 2006).

Recebido em 27/12/2006

Aprovado em 29/08/2007

¹Laboratório Especial de Microbiologia Clínica (LEMC) da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), SP, Brasil.

²Laboratório de Cocos Gram Positivos da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre (FFFCMPA), RS, Brasil.

³Laboratório NKB, Hospital 9 de Julho, São Paulo, SP, Brasil.

⁴Laboratório de Microbiologia do Hospital São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil.

Sendo assim, este estudo teve como objetivo relatar duas bacteremias por SCoN ocorridas em maio e setembro de 2006, em um hospital geral, localizado na cidade de São Paulo, SP, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas duas amostras de SCoN isoladas de 2 pacientes distintos com quadros de bacteremia em um hospital geral, localizado na cidade de São Paulo/SP, empregando o esquema de caracterização de Kloss e Bannerman (1999) com algumas modificações e com o sistema semi-automatizado AutoScan®/MicroScan® (Dade Behring). Os materiais foram semeados segundo procedimentos convencionais, sendo realizado o isolamento primário em ágar sangue, onde as amostras foram submetidas à identificação através das provas bioquímicas e determinação da suscetibilidade frente ao painel Gram-positivo (MicroScan®). As recomendações do fabricante do produto para inoculação e incubação dos painéis foram rigorosamente seguidas. Após 18-24 horas de incubação a 35°C +/- 1°C, os painéis foram lidos no sistema MicroScan®.

Estas amostras foram identificadas através das seguintes provas convencionais: catalase, teste da coagulase livre e ligada, pirrolidônio arilamidase (PYR), resistência à bacitracina, novobiocina, polimixina B, urease, fosfatase alcalina, desferroxamina, e carboidratos como trealose, manitol, manose, maltose, sacarose, celobiose, lactose, xilose, dentre outros. Com essas amostras também foram efetuados os testes de suscetibilidade, segundo o CLSI (2004), empregando-se a metodologia de disco difusão em ágar frente à: oxacilina, cefoxitina, vancomicina e teicoplanina (Oxoid®).

RESULTADOS

Os testes fenotípicos apontaram resistência à novobiocina e desferroxamina em todas as amostras. Na identificação convencional, as amostras fermentaram trealose, manitol e manose e apresentaram positividade nos testes da urease e da fosfatase alcalina. No sistema semi-automatizado, a confirmação da espécie apontou o *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticus* com 99,99% de probabilidade nas duas amostras analisadas.

Em relação aos testes de disco difusão, os isolados mostraram-se resistentes à oxacilina, mas suscetíveis à cefoxitina, vancomicina e teicoplanina. A confirmação destes testes foi realizada pela metodologia do Etest® mostrando a oxacilina com CIM superior a 256 µg/ml, e suscetibilidade a vancomicina e a teicoplanina. A reação da PCR comprovou a presença do gene *mecA* nestes isolados.

DISCUSSÃO

A identificação das espécies de SCoN, embora seja de difícil realização para a maioria dos laboratórios clínicos, pois é muito trabalhosa e demorada, é necessária para diferenciar o potencial patogênico e o perfil de resistência de cada espécie (De Paulis *et al.*, 2003).

Em nosso estudo, devido à resistência à desferroxamina, eliminou-se dentre os SCoN, os *S. epidermidis* e *S. hominis* e incluiu os isolados como novobiocina resistentes. Antigamente, novobiocina resistente determinava identificação presuntiva de *S. saprophyticus*. Hoje em dia, entretanto, têm sido reconhecida que outras espécies de SCoN também são novobiocina resistentes. São eles: *S. saprophyticus*, *S. cohnii* subsp. *cohnii*, *S. cohnii* subsp. *urealyticus*, *S. sciuri* e *S. xylosus*. A resistência aos antimicrobianos é geralmente codificada por plasmídeos, e dessa forma é possível a transferência de genes resistentes à novobiocina entre espécies.

A detecção de resistência à oxacilina nos Laboratórios de Microbiologia Clínica representa um grande problema, pois a maioria dos isolados resistentes apresentam padrão de resistência heterogêneo e só são reconhecidas usando condições de cultivo específicas e várias recomendações têm sido feitas para melhorar a detecção "in vitro" desta resistência (Kloss & Bannerman, 1999; CLSI, 2004).

Os testes de suscetibilidade realizados demonstraram que houve falha na suscetibilidade da cefoxitina, pois de acordo com a nova técnica padronizada pelo CLSI/2004, a detecção de resistência à oxacilina dos *S. aureus* e SCoN passou a ser realizada com discos de 30 µg de cefoxitina por aumento de especificidade. No nosso estudo, a cefoxitina foi suscetível enquanto a oxacilina apresentou resistência. Nesse caso e com a confirmação da presença do gene *mecA* por PCR, verificamos que houve falha na detecção da resistência pelo teste de disco difusão com o disco de cefoxitina. Isso demonstra que devemos estudar um número maior de amostras não-epidermidis para verificar se a utilização do disco de cefoxitina em nosso meio prediz melhor a resistência a meticilina. Esses resultados demonstram a importância e correta identificação dos SCoN isolados em hemoculturas apontando também a necessidade de outros estudos para acompanhar a evolução da resistência desses microrganismos no ambiente hospitalar.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- BANNERMAN, T. M. *Staphylococcus, Micrococcus and other catalase-positive cocci that grow aerobically*. In: P. R. Murray (Ed.). *Manual of Clinical Microbiology*, Eighth Edition. Washington, DC: ASM Press, v. 1, 203, p.384-404.
- CAIERAO, J.; SUPERTI, S.; DIAS, C. A. G.; d'AZEVEDO, P. A. . Automated systems in the identification and determination of methicillin resistance among coagulase negative staphylococci. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 10, p. 277-279, 2006.
- CAIERAO, J.; SUPERTI, S.; ROESCH, E.; DIAS, C. A. G. ; d'AZEVEDO, P. A. . Evaluation of phenotypic methods for methicillin resistance characterization in Coagulase-Negative Staphylococci (CNS). *Journal of Medical Microbiology*, v. 53, n. 12, p. 1195-1199, 2004.
- CLSI - Clinical Laboratory Standards Institute. 2004. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Fourteenth Informational Supplement*. Wayne, Pennsylvania.
- De GIUSTI, M. et al. Phenotypic detection of nosocomial *mecA*-positive coagulase-negative staphylococci from neonates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 44, p. 351-358, 1999.
- De PAULIS, A. N. et al. Five-test simple scheme for species-level identification of clinically significant coagulase-negative staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 41, n. 3, p. 1219-1224, 2003.
- KLOSS, W. E. & BANNERMAN, T. L. - *Staphylococcus and Micrococcus*. In: Murray, P.; Baron, E.; Tenover, F.; Tenover, F.; Tenover, F.; Tenover, F. (Eds), *Manual of Clinical Microbiology*. 7th edition AMS Press. Washington DC. 264-282 pp. 1999.
- MARSHALL, A. S.; WILKE, W. W.; PFALLER, M. A.; JONES, R. N. - *Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci from blood stream infections: frequency of occurrence, antimicrobial susceptibility, and molecular (mec A) characterization of oxacilina resistance in the SCOPE Program*. *Diagn. Microbiology Infectious Diseases*. 30:205-214, 1998.
- McTAGGART LA, ELLIOTT. Is resistance to novobiocin a reliable test for confirmation of the identification of *Staphylococcus saprophyticus*? *J. Med. Microbiol.* 1989; 30: 253-266.
- RUPP, M. E. & ARCHER, G. L. - *Coagulase -Negative Staphylococci: pathogens associated with medical progress*. *Clin. Infect. Dis.* 19: 231-245, 1994.
- SCHMIDT H, NAUMANN. Phosphatase-Novobiocin-Mannose-Inhibition Test (PNMI-Test) for Routine Identification of the Coagulase-Negative Staphylococcal Urinary Tract Pathogens *S. epidermidis* and *S. saprophyticus*. *Zbl. Bakt.* 1990, 272: 419-425.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Profº Pedro Alves d'Azevedo

Rua Sarmento Leite 245/211

CEP. 90050-170 Porto Alegre - RS

Tel: +55 (51) 3303-9000 – Fax +55 (51) 3303-8810

E-mail: pedroaze@ffccmpa.edu.br

Estudo da prevalência da infecção genital por papilomavírus humano em mulheres no climatério*

Prevalence of human papillomavirus infection in climaterical women

Dra Linda Emiko Suzuki¹, Dr. José Mendes Aldrighi², Dr Israel Nunes Alecrin² & Dra Cecília Roteli Martins²

RESUMO - O presente estudo objetivou a prevalência da infecção genital por HPV em auxiliares de serviços gerais, de 40 a 60 anos de idade, da Universidade Estadual de Maringá. Oitenta e oito mulheres responderam ao questionário sócio-demográfico e comportamental e foram submetidas a exame ginecológico com coleta de teste de Papanicolaou convencional. Em 73 mulheres foi coletada, também, amostra para pesquisa de DNA HPV por PCR. A média de idade foi de 48,8 anos (DP±5,7); a menarca ocorreu em média aos 13,5 anos (DP±2,0) e 45,5% com menarca tardia; sendo que 47,7% tiveram o primeiro ato sexual com mais de 20 anos sendo a média de 20,9 anos (DP±5,1). A menopausa ocorreu, em média, aos 46,4 anos (DP ±5,0) e 61,4% apresentavam ciclos menstruais; nos últimos 3 anos 77,3% tiveram um único parceiro. Todas faziam parte de programas de rastreamento institucional anual. As colpocitologias apresentaram 59,2% normais e 40,8% normais com componentes inflamatórios. Foram encontrados *Mobiluncus sp*, *Gardnerella vaginalis*, fungos. Nenhum DNA de HPV foi encontrado, confirmando a ausência da infecção por HPV em exames citológicos normais e/ou apenas inflamatórios.

PALAVRAS-CHAVE - Papilomavírus humano. Climatério. Epidemiologia.

SUMMARY - The frequency of HPV was verified in servants from 40 to 60 years in Universidade Estadual de Maringá. It was studied 88 women that answered to the demographic and comportamental questionnaire, 73 accomplished the research of DNA HPV for chain reaction of the polimerase and 76 Pap test. The medium age was of 48,8 years (DP±5,7); the menarca happened on average to 13,5 years (DP±2,0) with 45,5% with late menarca and 47,7% had the first relationship with more than 20 years, and the average was 20,9 years (DP±5,1). The menopause's medium age was 46,4 years (DP ±5,0) and 61,4% were in the menacme. In the last 3 years 77,3% had just a partner. All had accomplished the preventive of gynecological cancer. The Pap test resulted in 59,2% normal and 40,8% inflammatory. They were found *Mobiluncus sp*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida sp*. No suggestive case of HPV was detected. DNA of HPV was not found. The frequency of HPV in women in the 40 to 60 years with Pap test normal or just inflammatory without cytological atipias, it was zero.

KEYWORDS - Human papillomavirus. Climateric. Epidemiology.

INTRODUÇÃO

A expectativa de vida da mulher brasileira, conforme a Organização Mundial da Saúde, é de 65,7 anos e o gasto em saúde, por pessoa, foi de US\$ 573 em 2001²⁰. Como as mulheres vivem mais e são mais numerosas, há que avaliar os programas de saúde da mulher sob a ótica da população que envelhece.

O climatério é definido como o período de vida da mulher compreendido entre os 40 e 65 anos de idade e caracterizado pela diminuição progressiva dos níveis séricos de estrogênio e progesterona e aumento do hormônio folículo-estimulante (FSH) conseqüente à diminuição dos folículos ovarianos^{12; 20}. Por outro lado, a menopausa é um episódio dentro do climatério que se refere à última menstruação²⁰. No Brasil, segundo PINOTTI e BARROS (2004), a menopausa ocorre em média aos 47,8 anos.

ROBERTO NETTO (2001) relatou, com dados da Organização Mundial de Saúde, que a partir de 2020 serão diagnosticados um milhão de novos casos de câncer ao ano. Cerca de 70 % deles ocorrerão em países em desenvolvimento e apenas 5% desses países possuem recursos para o controle da doença. Se medidas de prevenção e controles não forem tomadas, dentro de 20 anos, a incidência de câncer aumentará em aproximadamente 100%. Sabe-se que, utilizando apenas os conhecimentos científicos e tecnologias existentes, poder-se-ia reduzir em um quarto, todos os cânceres e curar-se-ia uma terça parte. O que se tem certeza é que estratégias preventivas poderiam com baixo custo reduzir substancialmente a incidência de câncer, principalmente o do colo uterino¹⁰.

Este tipo de câncer representa 10% de todos os tumores malignos em mulheres. É uma doença que pode ser prevenida, estando diretamente vinculada ao grau de subdesenvolvimento do país⁹.

Apesar do conhecimento cada vez maior nesta área, a abordagem mais efetiva para o controle do câncer do colo do útero continua sendo o rastreamento através do exame de Papanicolaou (citologia oncológica cérvico-vaginal). É fundamental que os serviços de saúde orientem sobre a importância do exame preventivo, pois a realização periódica permite reduzir em 70,0% a mortalidade por câncer do colo do útero na população de risco^{2; 10}.

Segundo a Organização Mundial da Saúde¹⁹, em mulheres entre 35 - 64 anos, após um exame negativo, o exame subsequente pode ser a cada três anos, com a mesma eficácia anual. Sendo que a redução ao risco seria de 93% se fizesse exame anual e de 91% se fosse realizado a cada três anos. O efeito protetor a cada cinco anos do exame preventivo seria de 84% e de 4%, a cada 10 anos^{4; 5; 19}. Vários são os fatores de risco identificados para o câncer do colo do útero. Os fatores sociais, ambientais e os hábitos de vida, tais como, atividade sexual antes dos 18 anos de idade, pluralidade de parceiros sexuais, vício de fumar, inadequados hábitos de higiene e o uso prolongado de contraceptivos orais, parecem estar relacionados ao desenvolvimento de câncer de colo uterino^{15; 19}.

Estudos feitos por SYMMANS e cols. (1992), mostraram ainda que a associação da infecção de Papilomavírus humano (HPV) e Chlamydia têm papel importante no desenvolvimento da displasia das células cervicais e na sua transformação em células cancerosas. O vírus do Papiloma

Recebido em 11/10/2006

Aprovado em 19/03/2007

*Parte da tese de doutorado apresentada na Faculdade de Saúde Pública da USP, trabalho realizado no Departamento de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá e Laboratório de Experimental em Ginecologia e Obstetrícia da UNIFESP.

¹Profª Adjunta da Universidade Estadual de Maringá, Av Colombo, 5790 Maringá, Paraná.

²Prof Associado da Faculdade de Saúde Pública da USP, Av Dr Arnaldo, São Paulo.

humano está presente em 95 a 99% dos casos de câncer do colo do útero^{1,4,11,15}. Em mulheres infectadas pelo Papilomavírus, há outros fatores de risco importantes imbricados no desenvolvimento do câncer: número elevado de gestações, o uso de contraceptivos orais, tabagismo, infecção pelo HIV e outras doenças sexualmente transmitidas, como herpes e clamídia⁷.

A infecção genital pelo Papilomavírus humano é considerada doença sexualmente transmissível (DST) muito comum. Sendo altamente transmissível com prevalência alta, sendo um importante problema em saúde pública. Assim, o presente trabalho teve como objetivo estimar a prevalência da infecção genital por Papilomavírus humano em auxiliares de serviços gerais, na fase do climatério, com acesso a exames de rastreamento de câncer cervical, da Universidade Estadual de Maringá.

METODOLOGIA

Os critérios de inclusão no estudo foram: mulheres na fase do climatério; serventes com mais de 40 anos em atividade no período entre 2003 e 2004, com útero intacto.

Os critérios de exclusão: mulheres com sangramento uterino anormal, portadores do vírus HIV, com mudança de função, em licença ou afastamento, com diagnóstico ou suspeita de câncer ginecológico, pacientes que foram tratadas por cirurgia radical para câncer de colo de útero e com incapacidade de assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Uma mulher se recusou a participar do estudo. O protocolo de estudo foi aprovado pelas Comissões Científicas e de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo e Universidade Estadual de Maringá. Todas as mulheres participantes foram informadas sobre os procedimentos que seriam realizados e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Oitenta e oito mulheres responderam ao questionário com questões sócio-demográficas e comportamentais. Dessas, 76 mulheres fizeram a citologia oncológica cérvico-vaginal convencional (CO), no setor de Citologia da Universidade Estadual de Maringá e 73 a pesquisa de DNA do HPV pela reação em cadeia da polimerase (PCR), no laboratório experimental de Ginecologia da Universidade Federal de São Paulo. Sendo que, mulheres com quaisquer alterações detectadas que merecessem intervenções, foram encaminhadas ao Ambulatório Médico da Universidade Estadual de Maringá.

RESULTADOS

Das 88 mulheres do estudo, 72,7% eram da raça branca e todas as mulheres da raça mestiça eram resultados do cruzamento de branco com negro. Nenhuma delas era da raça amarela (Tabela 1).

Em relação à escolaridade, 53,4% tinham pelo menos o segundo grau e 4 mulheres (4,5%) tinham curso superior das quais 1,1% completo e 3,4% incompleto.

A frequência de mulheres casadas foi de 65,9% e a média de tempo de união foi de 16,1 anos; enquanto a frequência de solteiras foi igual a 5,7%.

A média de pessoas por família morando na mesma casa e a média por dormitórios foi de 3,7 (DP± 1,4) e 2,7 (DP± 0,7), respectivamente.

Em relação ao tempo de serviço na instituição a frequência foi de 29,5% e 20,5% para as mulheres que trabalhavam en-

tre 21 a 25 anos e 6 a 10 anos, respectivamente. A renda média per capita por família foi de R\$ 308,30 (DP± 161,9), sendo que faixa de renda entre R\$ 240,00 a R\$ 480,00 (1 a 2 salári-

TABELA I
Distribuição do número e percentual de mulheres segundo as variáveis demográficas. Maringá-PR, 2003.

VARIÁVEIS		N (88)	%
Raça	branca	64	72,7
	mestiça	19	21,6
	negra	5	5,7
Escolaridade	primário	12	13,7
	1º grau	25	28,4
	2º grau	47	53,4
	superior	4	4,5
Estado civil (em anos)	solteira	5	5,7
	casada	58	65,9
	separada	12	13,6
	Viúva	13	14,8
Pai	vivo	23	26,1
	falecido	62	71,6
	adotivo	2	2,3
Mãe	viva	46	52,3
	falecida	40	45,4
	adotiva	2	2,3
Nº pessoas/ família	1	3	3,4
	2-3	40	45,5
	4-5	35	39,8
	> 5	10	11,3
Nº dormitórios	1	2	2,3
	2	31	35,2
	3	46	52,3
	4	9	10,2
Tempo de trabalho (anos)	≤5	14	15,9
	6-10	18	20,5
	≤ 10	56	63,6
Renda familiar per capita (salário mínimo)*	< 1	3	3,4
	1 a 2	53	60,2
	≥ 3	32	36,4

*salário mínimo=R\$240,00.

os mínimos) correspondeu a 60,2% de frequência (Tabela 1). A menor renda foi *per capita* foi de R\$ 23,00 e a maior de R\$ 933,00. A moda foi R\$ 200,00 e a mediana de R\$ 260,00.

A média de idade das mulheres incluídas no estudo foi de 48,8 anos (DP± 5,7). A média de idade para a ocorrência da menarca foi de 13,5 (DP± 2,0) e a 1º relação sexual ocorreu em média aos 20,9 anos (DP± 5,1). Setenta e sete por cento das mulheres eram ativas sexualmente na data da entrevista e 77,3% delas tinham apenas um parceiro sexual nos últimos 3 anos. Quanto ao tempo de convívio com um único parceiro a frequência foi de 35,2%, 7,9%, 3,4%, 53,5%, com os parceiros sexuais até 5 anos de união, 6-10 anos, 11-15 anos e > 15 anos de união, respectivamente (Tabela 2). Quanto ao uso de método contraceptivo oral (ACO) foi utilizado por 23 mulheres (26,1%) e o uso da camisinha não foi referido.

As mulheres nulíparas corresponderam a uma frequência de 8,0% e as que tinham de 2 a 3 filhos vivos foi de 64,7% (Tabela 2). Em relação a filhos, 92,0% apresentaram filhos vivos e 5 mulheres relataram terem tido aborto.

TABELA II

Distribuição do número e percentual de mulheres segundo a idade e comportamento sexual. Maringá – PR, 2003.

VARIÁVEIS		N (88)	%
Idade (anos)	40 – 44	24	27,3
	45 – 49	30	34,1
	50 – 54	14	15,9
	55 – 59	18	20,4
	60 - 65	2	2,3
Menarca (anos)	≤ 11	14	16,0
	12 – 13	34	38,6
	14 – 15	25	28,4
	≥ 16	15	17,0
Coitarca (anos)	≤ 15	4	4,5
	16-18	24	27,3
	19-20	18	20,5
	21-25	29	32,9
	26-30	10	11,4
	≥ 31	3	3,4
Número de parceiros	0	20	22,7
	1	68	77,3
Tempo com mesmo parceiro sexual (anos)	0	20	22,7
	≤ 5	11	12,5
	6-10	7	7,9
	11 -15	3	3,4
	≥ 16	47	53,5
Métodos contraceptivos	Nenhum	55	62,5
	ACO	23	26,1
	Laqueadura	10	11,4
Nº de filhos	0	7	8,0
	1	11	12,5
	2	23	26,1
	3	34	38,6
	4	7	8,0
	≥ 5	6	6,8

ACO = anticoncepcional oral

A idade para ocorrência da menopausa foi em média aos 46,4 anos (DP±5,0); e a freqüência para a menopausa natural foi de 40,9% e de 16,0%, cirúrgica. Não houve nenhuma menopausa actínica. Quarenta e dois por cento se encontravam no menacme (fase fértil da mulher) (Tabela 3). A THM (terapia hormonal da menopausa) foi utilizada por 8 mulheres, o correspondente a uma freqüência de 3,4%. Sete mulheres (8,0%) relataram terem tido HPV no passado, porém, tanto a colpocitologia como a pesquisa de DNA do vírus foi negativa. Por outro lado, 42 mulheres (47,7%) não sabiam ou não se referiram à infecção pelo HPV (Tabela 3). Houve apenas um caso de neoplasia intraepitelial de alto grau (NIC III) no passado, relatada pela própria entrevistada, porém, alterações citológicas não foram visualizadas na CO realizada e nem o DNA do HPV foi encontrado. O uso do tabaco foi relatado por 33 (37,5%) mulheres e 55 (62,5%) nunca haviam fumado. O número de cigarros fumados por dia foi de ≤ 10 cigarros (64,8%); 11 a 20 cigarros (29,3%) e ≥ 21 cigarros (5,9%).

TABELA III

Distribuição do número e percentual de mulheres segundo as variáveis clínicas e epidemiológicas. Maringá – PR, 2003.

VARIÁVEIS		N (88)	%
Tipo de menopausa	Mena cme	38	43,2
	Natural	36	40,9
	Cirúrgica	14	15,9
Ondas de calor	Sim	48	54,5
	Não	40	45,5
Antecedentes de HPV	Sim	7	8,0
	Não	38	43,2
	Não sabe	3	3,4
	NIC III	1	1,1
	Não referiu	39	44,3
Tabagismo	Sim	33	37,5
	Não	55	62,5
Tabagismo passivo na infância	Sim	69	78,4
	Não	19	21,6
Tabagismo passivo idade adulta	Sim	45	51,1
	Não	43	48,9

Foram realizados 76 exames de citologia oncológica cérvico-vaginal (CO). Quarenta e cinco exames foram da classe I (59,2%) e 31 exames classe II (40,8%).

A freqüência de citologia normal foi de 59,9% e de exames inflamatórios ou infecciosos somaram 41,0%.

O resultado dos exames de CO apresentou uma freqüência de 57,0% para *Lactobacillus*. A flora não foi visualizada (flora nv) em 12,0%. Flora mista, *Gardnerella vaginalis*, fungos e *Mobiluncus* sp, representaram 11,0%, 7,0%, 4,0% e 1,0%, respectivamente.

A freqüência de processos benignos encontrados nos exames de CO foi de 49,0%, 24,0% e 3,0% para os exames sem alterações, com metaplasia escamosa e do tipo regenerativo, respectivamente.

Quanto ao trofismo citológico encontrado nos exames de CO, apresentados na Figura 5, a freqüência foi de 59,0%, 16,0%, 11,0%, 9,0% e 5,0% para o normotrófico, atrófico, exame com avaliação prejudicada, hipotrófico e hipertrófico, respectivamente.

Foram realizadas 73 pesquisas de DNA de HPV, de amplo espectro de genótipos, por reação de cadeia da polimerase (PCR). Foram realizadas novas coletas em 6 mulheres, porque os resultados não foram conclusivos. Todas as reações resultaram negativas para DNA de HPV, assim, nenhum caso de HPV foi encontrado no material analisado.

DISCUSSÃO

Apesar de abarcar quase a totalidade (86,4%) da população referente a auxiliares de serviços gerais, deve-se considerar como uma população institucional de não representar a população em geral.

Em relação ao exame de PCR mesmo conhecendo o procedimento de coleta que seria simultâneo à coleta cérvico-vaginal, 3 mulheres não autorizaram a pesquisa de DNA do vírus. Essa atitude nos reporta para uma outra dimensão, ou seja, o medo de que o resultado seja positivo ou de que outras pessoas conheçam o resultado (algumas das declarações constatadas). Assim, pode o inquérito trazer alguns vieses, inerentes ao comportamento das pessoas entrevistadas.

Este estudo avaliou a prevalência de HPV em mulheres no climatério, período de vida com poucos estudos pertinentes. Partindo do pressuposto de que casais nessa fase, por motivos vários, têm atividade sexual reduzida e que o cônjuge pode desempenhar eventuais relações extraconju-

gais, o que se espera é uma frequência baixa em doenças sexualmente transmissíveis (DST). Os resultados mostraram que a frequência do HPV, em mulheres na faixa etária de 40-60 anos foi negativa (igual a zero) para uma população em idade fértil, com menarca após 14 anos de idade e que teve a primeira relação sexual após 20 anos, sem uso de método contraceptivo, maioria multíparas, com renda familiar menor ou igual a um salário mínimo e principalmente com um parceiro nos últimos 3 anos.

Em se tratando do Município de Maringá, cuja população está em torno de 303.551 habitantes¹³, os dados de janeiro de 2004 mostraram que a frequência de HPV é pequena. De 1.177 exames preventivos realizados, houve apenas um caso do vírus; sendo 1.168 dentro da normalidade (99,2%); 6 casos de atipias de células escamosas de significado indeterminado (ASCUS); 1 neoplasia intraepitelial de grau I (NIC I) e 2 casos de neoplasia intraepitelial de grau II (NIC II), assim, a frequência de alterações citológicas e de HPV é relativamente baixa na região¹⁶. Quanto a esses dados, é preciso considerar que estão distribuídos na população como um todo, sem considerar a faixa etária. Este estudo avaliou apenas a população de 40-60 anos, da Universidade Estadual de Maringá. A frequência do Papilomavírus humano tem sido observada, preferencialmente, em mulheres no menacme e sexualmente ativas; e, a literatura tem mostrado que a ela é inversamente proporcional ao aumento da idade^{6, 11, 15}.

UTAGAWA e cols. (1997) estudaram as alterações citológicas de 1503 exames de mulheres acima de 50 anos. Os de sinais citológicos sugestivos de infecção por HPV foram encontrados em 5,5% e quando submetidos à hibridização *in situ*, 1,5% apresentaram o DNA do vírus. Os autores ressaltaram que a acuidade diagnóstica da citologia é menor no climatério pela dificuldade de obtenção da amostra pela regressão apresentada pelo epitélio. A população nesse estudo foi previamente selecionada pela citologia por apresentarem características sugestivas de HPV, explicando, assim, a prevalência de 1,5% na pesquisa do DNA do vírus. Foram pesquisadas as alterações citopáticas do HPV, porém, no presente estudo, não foi observada nenhuma alteração sugestiva daquele vírus. Diferentemente deste, na pesquisa desenvolvida por UTAGAWA e cols. (1997), não foram estudados os aspectos epidemiológicos e demográficos, além da idade das mulheres, que se limitou a 50 anos ou mais. Como, também, no estudo de SYMMANS e cols. (1992), que correlacionando a citologia com a histologia, constataram apenas um caso (6%) de DNA do HPV das 17 mulheres pré-menopáusicas selecionadas por colposcopia. Duas apresentaram lesões intrepiteliais cervicais quando submetidas à biópsia. No mesmo, estudo os autores encontraram resultados equivalentes em 47 mulheres pós-menopausadas que haviam se submetido à histerectomia por motivos não associados. Constataram, ainda, que o vírus esteve presente de forma semelhante tanto nas pré como nas pós-menopáusicas. Portanto, nem sempre as atipias estão associadas à presença do vírus, representando apenas alterações inflamatórias atróficas, principalmente, relacionadas às colpites senis, que são muito frequentes em esfregaços citológicos em mulheres no climatério; portanto, as atipias citológicas próprias da idade podem mimetizar neoplasias intraepiteliais.

LAZCANO e cols. (2001), num estudo em 33 municípios no México, pesquisaram o HPV em 1340 mulheres com diagnóstico citológico normal. Utilizando o PCR do tipo reverso, os autores encontraram 27 (2,01%) casos de HPV, sendo 17 de alto risco e 10 de baixo risco. Em relação à fre-

quência de HPV por idade, eles encontraram 23% e 16,7% em mulheres com idade inferior a 25 anos e com 65 anos ou mais respectivamente. Relatam, ainda, que o HPV de baixo risco foi linearmente mais frequente com a idade das mulheres. A principal variável em todas as idades associadas aos dois tipos do vírus foi o número de parceiros sexuais. Comparando os resultados com os de LAZCANO e cols. (2001) sustentando a idéia de que parceiros únicos traduzem baixa frequência de HPV, como foi observado no presente estudo.

Em relação à infecção do HPV, a condição de maturidade hormonal do epitélio cérvico-uterino parece favorecer a infecção por HPV; assim, UTAGAWA e cols. (1997) em 119 mulheres com mais de 50 anos, encontraram 5,9% (7) de atróficos, 42,0% (50), hipotróficos e 52,1% (62) tróficos. Os 7 casos atróficos apresentavam quadro com alterações sugestivas de HPV. Apesar do pequeno número, os autores sugerem que o resultado corrobora naquele sentido. Nesse estudo, 16% (12) foram atróficos, 9% (7) hipotróficos; 59% (45) tróficos e 5% (4) hipertróficos, sendo 11% (8) das amostras não realizadas por apresentarem condições inadequadas de avaliação citológica hormonal.

Em relação a processos infecciosos no climatério, CARDOSO e cols. (2000) alertam para uma análise cuidadosa dos esfregaços vaginais em mulheres na idade entre 40 e 65 anos de idade. Nesse estudo, com 533 mulheres, sob a coloração de Papanicolaou, CARDOSO e cols. (2000) encontraram 44,5% de vaginites determinadas por flora mista e 10% de *Gardnerella vaginalis*. Em Maringá, foi encontrado 11% de vaginite por flora mista seguidas de 7% de *Gardnerella vaginalis*. E, ainda, 1% de *Mobiluncus* sp. Entre as vaginites determinadas por *Cândida* sp., CARDOSO e cols. (2000) encontraram 27,3% 4%; seguida de 12,6% de *Trichomonas vaginalis*; frequências consideradas altas, desde que foi encontrado apenas 4% do fungo e nenhum caso desse protozoário. Diante de seus resultados, CARDOSO e cols. (2000) recomendam uma análise criteriosa dos esfregaços colpocitológicos em mulheres no climatério, uma vez que os processos infecciosos, os mais diversos, podem estar presentes pelo favorecimento do epitélio atrófico.

ALVARENGA e cols. (2000) relatam que de 3.287 casos de infecções no colo do útero, 381 apresentaram HPV associados a diferentes afecções; 29,1% das quais representaram cervicites; 25,1% associados ao NIC I (Neoplasia Intraepitelial Cervical) e 14,1% ao NIC II; 34,0% NIC III e 1,8% ao carcinoma *in situ*. Em Maringá, apenas um caso de NIC III ocorreu no passado, relatado em entrevista, cujo DNA do HPV não foi detectado nem as alterações citopáticas patognômicas da infecção foram encontradas.

Neste estudo há que se considerar a ausência de HPV, principalmente em mulheres com parceiro único e estável, não fumante e com início da atividade sexual tardia. E, ainda, mulheres que se submetem ao exame preventivo com regularidade. Mesmo com amostragem que não se possa inferir à população, os dados reforçam a literatura para que esse perfil de mulheres que apresentavam dois exames consecutivos negativos, o próximo exame poderá ser após 3 anos. Essas medidas são consideradas seguras e trarão, com certeza, uma economia substancial nos recursos para saúde².

CONCLUSÃO

A relevância clínica deste trabalho consiste em mostrar que mulheres no climatério, cujo exame preventivo (CO) é classe I ou II de Papanicolaou e sem atipias celulares, os testes de detecção de DNA do HPV terá grandes possibilida-

des de serem negativos; portanto, os recursos para os programas preventivos de câncer de colo de útero para mulheres com perfil epidemiológico semelhante a esta casuística podem ser direcionados de forma racional e econômica.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Ismael Guerreiro que tão gentilmente possibilitou a pesquisa do DNA de HPV no Laboratório Experimental de Ginecologia e Obstetria da UNIFESP.

REFERÊNCIAS

- 1 ALVARENGA, G. C. et al. Papilomavírus humano e carcinogênese no colo do útero. *J Bras Doen Sex Transm*, 12 (1): 28-38, 2000.
- 2 AMERICAN CANCER SOCIETY. Can cervical cancer be prevented? [on line]. Disponível em: [http ; //www. cancer.org/dicroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_Can_cervical_cancer_be_pre...](http://www.cancer.org/dicroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_Can_cervical_cancer_be_pre...) Acesso em: 4 jan 2005.
- 3 CARDOSO, M. S. R. et al. Prevalência de vaginites específicas e inespecíficas em mulheres na pós-menopausa. *Rev Bras Anal Clin*, 32 (4): 275-7, 2000.
- 4 CHESSON, H.W. et al. The estimated direct medical cost of sexually transmitted diseases among American youth, 2000. *Perspect Sex Reprod Health*, 36 (1): 11-19, 2004.
- 5 GOLDIE, S. J.; KIM, J. J.; WRIGHT, T. C. Cost- effectiveness of human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening in women aged 30 years or more. *Obstet Gynecol*, 103 (4): 617-8, 2004.
- 6 GROSS, G. E.; BARRASSO, R. Infecção pelo papilomavírus humano: Atlas clínico de HPV. Porto Alegre: Artes médicas, 1999.
- 7 KOSKELA, P. et al. Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer. *Int J Cancer*, 85 (1): 35-9, 2000.
- 8 LAZCANO, P. E. et al. Epidemiology of HPV infections among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer*, 91: 412-20, 2001.
- 9 MINISTÉRIO DA SAÚDE. Câncer do colo uterino [on line]. Rio de Janeiro; 2005. Disponível em: http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?ID+326. Acesso em: 15 jan 2005.

- 10 MINISTÉRIO DA SAÚDE. O Programa Viva Mulher. [on line]. Brasília; 2004. Disponível em ; <http://www.inca.pr.gov.br/viva-mulher/> Acesso em: 25 jun 2004.
- 11 NAUD, P.; HAMMES, L.; VETTORAZZI, J. Infecção pelo papilomavírus humano (HPV). *Rev CPA Fac Méd Univ Fed Rio Gd do Sul*, 20: 138-42, 2000.
- 12 PINOTTI, J.A.; BARROS, A.C.S.D. Ginecologia moderna. Rio de Janeiro: Revinter; 2004.
- 13 PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE MARINGÁ. Conheça Maringá. [on line]. Maringá; 2005. Disponível em: <http://www.maringa.pr.gov.br/htmls/turismo/conheca/his>
- 14 ROBERTO NETTO. Avaliação crítica do programa nacional de combate ao câncer de colo uterino do ministério da saúde do Brasil. São Paulo; 2001. Dissertação (Mestrado)- Escola Paulista de Medicina da UNIFESP.
- 15 SCHIFFMAN, M.; CASTLE, P. E. Human papillomavirus: epidemiology and public health. *Arch Pathol Lab Med*, 127: 930-4, 2003.
- 16 SECRETARIA DA SAÚDE DO ESTADO DO PARANÁ. Câncer de colo do útero. [on line]. Curitiba; 2004. Disponível em <http://www.saude.pr.gov.br/cancer/indexc.html>. Acesso em: 25 jun 2004.
- 17 SYMMANS, F. et al. Correlation of cervical cytology and human papillomavirus DNA detection in postmenopausal women. *Int J Gynecol Pathol*, 11 (3): 204-9, 1992.
- 18 UTAGAWA, M.L. et al. A. Papilomavírus humano em esfregaços citológicos de mulheres acima de 50 anos: estudo morfológico e de hibridização in situ nas respectivas biópsias. *J Bras Ginecol*, 107 (40): 83-7, 1997.
- 19 WORLD HEALTH ORGANIZATION Countries: Brazil [on line]. Disponível em <http://www.who.int/coutry/bra/en> . Acesso em: 25 jul 2004.
- 20 WORLD HEALTH ORGANIZATION. Research on the menopause in the 1990's: Report of a WHO scientific group. Geneva; 1996 (WHO-Technical Report Series, 866).

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Dra Linda Emiko Suzuki
Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas
Av. Colombo, 5790
CEP 87020-900 Maringá, Paraná
E-mail: lesuzuki@uem.br



*Sociedade
Brasileira de
Análises
Clínicas*

SBAC

A SBAC facilita para você ir
ao maior congresso mundial
de Análises Clínicas.

Promoção de Aniversário

Inscrições a R\$ 400,00 até 31 de março.

Corra e aproveite!

IFCC WorldLab 2008

20th International Congress of Clinical Chemistry
35^o Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
8^o Congresso Brasileiro de Citologia Clínica



28 de setembro a 02 de outubro 2008
Fortaleza - CE - Brasil

Maiores informações: 21 2187-0800 - geral@sbac.org.br - www.sbac.org.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**

Anticorpos anti-eritrocitários em pacientes com Coombs direto positivo infectados com malária por *P.vivax* e *P.falciparum*

Anti-erythrocytes antibodies in patients with positive direct Coombs infected with *P.vivax* and *P.falciparum* malaria

Cristina Motta Ferreira; Maria das Graças da Costa Alecrim; William Antunes Ferreira; Felicien Gonçalves Vasquez & Nelson Abraham Fraiji

RESUMO - Para se determinar a prevalência de anticorpos anti-eritrocitários de grupo sanguíneo foram analisadas 247 amostras de sangue de pacientes com malária *vivax* e *falciparum* com teste de Coombs direto positivo atendidos na Fundação de Medicina Tropical Manaus-Amazonas no período entre setembro/99 a março/2000. Realizaram-se os testes laboratoriais de Coombs direto, dosagens de hemoglobina, bilirrubina e eletroforese de proteínas. Das amostras testadas, 13,3 % apresentaram Coombs direto positivo, sendo o anticorpo da classe IgG (33,3 %) o mais freqüente. Dos pacientes com malária *vivax* e Coombs direto positivo, 17% apresentaram anemia possivelmente devido a hemólise por auto-imunidade com o envolvimento da gamaglobulina IgG. Não foram detectados anticorpos contra antígenos de grupos sanguíneos nem aloanticorpos séricos. Torna-se necessário a realização de outras pesquisas para avaliação da existência de associação entre a positividade do Coombs direto e anemia ou se a mesma interfere ou não com o curso da doença.

PALAVRAS-CHAVE - Hemoglobina, Citocinas, Fenotipagem, Antiglobulina, Linfócitos.

SUMMARY - To determine the prevalence of anti-erythrocytes blood group antibodies 247 blood samples were analysed in patients with *vivax* and *falciparum* malariae with positive direct Coombs tests at the Tropical Medicine hospital in Manaus-Amazonas from september/99 to mars/2000. Direct Coombs tests, hemoglobin and bilirubin titration and protein electrophoresis were performed on the serum samples. Of the tested samples, 13,3% presented positive direct Coombs tests and the IgG class (33,3 %) was the most frequent. Of the patients with *vivax* malaria and positive direct Coombs, 36,4% presented anaemia possibly due to autoimmune hemolysis with the involvement of the IgG gamaglobulin. No any antibody against blood group antigens nor alloantibody were detected in the patient's serum. It becomes necessary to continue this researches for evaluate the association between the positivity of the direct Coombs tests and anaemia and if interferes with the course of the disease.

KEYWORDS - Hemoglobin, citocin, antiglobulin, fenotyping, linfocytes

INTRODUÇÃO

A malária continua sendo uma doença com grande impacto social no mundo e cerca de 300 a 500 milhões de pessoas são infectadas anualmente. Nos Estados Unidos, a estimativa é de 1000 casos/ano com 5 a 10 mortes (Hickmann, 2003; OMS, 2003). Na África o número de óbitos anuais oscila de 1 a 1,5 milhões, sendo as crianças com idade entre um a cinco anos as mais atingidas. No Brasil, no ano de 2000 foram registrados 605.408 casos de malária sendo 122.820 por *P. falciparum* e 475.674 por *P. vivax*, 6021 por *P. falciparum*+ *P. vivax* e 893 por *P. malari-ae* (FMT/IMT-AM/Funasa, 2000).

A patogênese da malária é bem conhecida, sendo decorrente do ciclo eritrocítico do *Plasmodium*. A malária causada pelo *P.falciparum* é a mais severa devido ao fato de produzir doença microvascular, o que a torna diferente fisiopatologicamente da malária *vivax* que, em certas condições, pode apresentar quadro clínico de menor gravidade, devido a resposta imune ser mais do tipo inflamatória e hemolítica (Hickmann, 2003).

As hemácias quando parasitadas pelo *P.falciparum*, deformam-se e tendem a se aderir aos pequenos vasos (citoaderência) bloqueando-os e diminuindo a perfusão tecidual, ocasionando acidose metabólica. As hemácias lisadas liberam os merozoítos e o sistema imunológico sofre estimulação respondendo com a ativação de diferentes tipos celulares como os linfócitos T, macrófagos e liberação de citocinas, como o TNF- α (fator de necrose tumoral alfa), que contribui para o quadro febril característico da doença (Hickmann, 2003; Bouharoun *et al.*, 1990; Kakkilaya,

2000). A anemia presente nos pacientes com malária decorre da lise eritrocitária e pelo efeito supressivo do TNF- α na eritropoiese. A hipoglicemia freqüentemente observada na infecção pelo *P.falciparum*, é causada pela depleção do glicogênio hepático, do consumo parasitário e pelos níveis elevados do TNF- α (Hickmann, 2003; Corbett, 2003; Bouharoun *et al.*, 1990; Kakkilaya, 2000).

Em decorrência disto, o sistema imune estimula a produção de anticorpos anti-eritrocitários que podem ser tanto da classe IgM quanto IgG. A ação isolada da IgM não limita o crescimento parasitário, sendo necessário o envolvimento dos monócitos sanguíneos via receptor Fc dessa imunoglobulina, após ligação ao parasita (Bouharoun *et al.*, 1990; Kakkilaya, 2000). A alteração da membrana dos eritrócitos infectados (Knobs) estimula a produção de anticorpos IgG que também aderem na superfície das hemácias não parasitadas induzindo a uma lise imuno mediada, que pode ocorrer de forma rápida, periódica, em intervalos de horas ou dias (Crane, 1991; Ritter *et al.*, 1993; Jakobsen *et al.*, 1977; Amil *et al.*, 2000).

Essa lise imuno mediada pode ocasionar anemia hemolítica tanto por anticorpos quentes (IgG) quanto frios (IgM) ou ambos (IgG + IgM), com dois mecanismos: O primeiro, seria caracterizado por hemólise intravascular na qual o anticorpo se ligaria aos eritrócitos ativando o sistema complemento, ocasionando a lise. Baseados nesta hipótese, Crane *et al.* (1991) e Ritter *et al.* (1993) observaram em seu estudo que quatro entre dez pacientes infectados com *P.falciparum* apresentaram episódios de hemólise prolongada, mesmo após a eliminação do parasita. Já o segundo mecanismo de hemólise, caracterizado por lise extravascular, ocor-

Recebido em 24/03/2006

Aprovado em 20/07/2007

¹Mestre em Patologia Tropical - Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas, Centro Universitário Nilton Lins; ²Doutora em Doenças Tropicais. Fundação de Medicina Tropical do Amazonas; ³Mestre em Patologia Tropical. Fundação Alfredo da Matta; ⁴Doutor em Hematologia. Universidade Federal do Amazonas.

ria devido a destruição eritrocitária pelo sistema retículo-endotelial, decorrente da sensibilização por anticorpos IgG ou IgG e complemento (C3).

Uma das formas laboratoriais de se detectar hemácias sensibilizadas por anticorpo e/ou complemento é através do teste de Coombs direto (teste da antiglobulina direta) (Salawu *et al.*, 2002). Foi após a introdução dessa metodologia que vários casos de anemia acentuada e alguns com positividade prolongada foram detectados (Nkrumak, 1973; Mc Gregor, 1978; Woodruff, 1979; Facer, 1979; Abdalla *et al.*, 1982). Na região norte do Brasil, mais precisamente no estado do Amazonas, mesmo com elevada incidência anual da doença, ainda pouco se sabe sobre a presença ou não desses anticorpos no sangue de pacientes e a relação ou não com quadro de anemia hemolítica grave comumente observado na clínica. No intuito de se responder a esta questão, Colauto e colaboradores (1981), realizaram um estudo no município de Humaitá, interior do Estado do Amazonas, e não detectaram aloanticorpos eritrocitários para grupo sanguíneo e nem positividade nos testes de Coombs direto. Dados referentes a anticorpos anti-eritrocitários relacionados com sistemas de grupos sanguíneos e anemia hemolítica na cidade de Manaus-Amazonas, ainda são inexistentes. Portanto, o presente trabalho tem por objetivo determinar a presença de anticorpos anti-eritrocitários em pacientes infectados com malária por *P.vivax* e *P.falciparum* com teste de Coombs direto positivo. Acredita-se que o mesmo contribuirá para o tratamento dessa doença e auxiliará na prevenção da anemia hemolítica que possa vir a acometer tais pacientes.

MATERIAL E MÉTODOS

Participaram do estudo 247 pacientes, de ambos os sexos, sendo 157 com malária por *P.vivax* e 90 com malária *P.falciparum*, atendidos no ambulatório da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMT/IMT-AM) e Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), no período de setembro/99 a março/2000. Realizou-se um estudo de prevalência transversal com componentes analíticos, de amostragem casual não probabilística, no qual foram incluídos pacientes com idade a partir de 18 anos, com malária *vivax* ou *falciparum*, portadores de uma ou mais infecções, mulheres até quatro gestações sem aborto prévio, e pacientes que nunca receberam transfusão sanguínea. Foram excluídos pacientes com idade menor que 18 anos, grávidas, mulheres com mais de quatro gestações e pacientes que apresentaram doenças hematológicas associadas. O grupo controle foi constituído por 30 doadores de sangue aptos para doação.

Para se correlacionar o teste de Coombs direto positivo, dosagem de hemoglobina e eletroforese de proteínas, as amostras de sangue total dos pacientes colhidas por punção venosa, ao diagnóstico da malária (dia D0), foram submetidas às dosagens de hemoglobina, para caracterização do quadro anêmico, e eletroforese de proteínas pelo método de zona com acetato de celulose, desenvolvida de acordo com os critérios estabelecidos por Naoum, 1990.

A frequência de anticorpos dirigidos contra antígenos do sistema de grupo sanguíneo, de alo-anticorpos séricos, da classe mais freqüente e da positividade do teste de Coombs direto, foi determinada após os testes imunohematológicos da antiglobulina direta (TAD) em gel centrifugação Liss/Coombs 37°C Diamed, antiglobulina humana indireta (AHI) de triagem em Polietilenoglicol (Peg) e gel centrifugação Liss/Coombs a 37°C com painel constituído por duas suspensões de hemácias fenotipadas. As amostras posi-

tivas na triagem imunohematológica foram submetidas a um painel de identificação pelo método de gel centrifugação constituída por dez suspensões de hemácias fenotipadas Biotest e onze suspensões de hemácias fenotipadas Diamed, utilizando-se as técnicas de Liss/Coombs 37°C, gel neutro papaína 37 °C Diamed, Peg e técnica salina a +4°C (Vengelen, 1996).

O cálculo das amostras tanto para a malária *vivax* como para a malária *falciparum* foi feito a partir da prevalência da doença utilizando-se o epi-table do programa epi-info (1997) da Organização Mundial de Saúde. Para as variáveis qualitativas e quantitativas foram utilizados os Testes de Qui-quadrado com correção de Yates e Pearson para testar o nível de associação entre as mesmas com uma significância de 5% ($\alpha=0,05$), (Toledo & Ovale, 1981; Siegel, 1979; Epi-info, 1977; Martins, 1996).

RESULTADOS

A análise das amostras revelou que 75,2 % (118/157) eram de pacientes do sexo masculino infectados com malária *vivax*, enquanto que 24,8 % (39/157) do sexo feminino. Na malária *falciparum*, 71,1 % (64/90) do sexo masculino e 28,9 % (26/90) do sexo feminino.

Detectou-se 13,3 % (33/247) de positividade no teste de Coombs direto sendo que, 14 % (22/157) foram nos casos de malária *vivax* e 12,2 % (11/90) na malária *falciparum* (Tabela 1) sendo a classe IgG a mais frequentemente encontrada.

TABELA I

Frequência de Teste de Coombs direto positivo realizado no dia D0 nos pacientes com malária *falciparum* e *vivax*

Testes de Coombs	<i>P. falciparum</i>		<i>P. vivax</i>	
	n	%	n	%
Coombs direto positivo	11	12,2	22	14,0
Coombs direto negativo	79	87,8	135	86,0
Total	90	100,0	157	100,0

Os testes de auto-absorção e de pesquisa e identificação de anticorpos irregulares com painel de hemácias fenotipadas, não detectaram nenhum anticorpo sérico irregular ou autoanticorpo com especificidade contra antígenos eritrocitários, somente os anticorpos séricos naturais da classe IgM (Tabela 2).

TABELA II

Frequência de Aloanticorpos séricos naturais detectados no Dia D0 nos pacientes com malária *falciparum* e *vivax*

Aloanticorpos Séricos	<i>P. falciparum</i>		<i>P. vivax</i>	
	n	%	N	%
Presença	68	75,6	120	76,4
Ausência	22	24,4	37	23,6
Total	90	100,0	157	100,0

Em relação ao sistema complemento, as frações C3 e C4 não foram pesquisadas especificamente. Não se detectou diferença nos casos de anemia entre pacientes com malária *vivax* e *falciparum* ou entre o teste de Coombs direto positivo e malária *vivax* ou *falciparum* (Tabela 3, 4).

TABELA III

Frequência de anemia detectada nos pacientes com malária *vivax* e teste de Coombs direto

Anemia	Teste de Coombs Direto			
	Positivo		Negativo	
	n	%	n	%
Anêmicos ($\leq 12,0$ g/dl)	28	36,4	29	21,5
Não anêmicos ($> 12,0$ g/dl)	14	63,6	106	78,5
Total	42	100	135	100,0

χ^2 de Pearson: p-valor=0,1272

TABELA IV
Frequência de anemia em pacientes com malária falciparum e teste de Coombs direto

Anemia	Teste de Coombs Direto			
	Positivo		Negativo	
	n	%	n	%
Anêmicos ($\leq 12,0$ g/dl)	2	18,2	23	29,1
Não anêmicos ($> 12,0$ g/dl)	9	81,8	56	70,9
Total	11	100,0	79	100,0

χ^2 com correção de Yates: p-valor=0,6898

O teste de eletroforese demonstrou uma elevação com significância estatística nos valores da fração gamaglobulina em relação às duas malárias (Tabela 5 e 6).

TABELA V
Nível da fração gamaglobulina em pacientes com malária Vivax e teste de Coombs Direto

Fração Gamaglobulina	Teste de Coombs Direto			
	Positivo		Negativo	
	n	%	n	%
Elevada ($\leq 1,5$ g/dl)	12	54,5	44	32,1
Normal ($> 1,5$ g/dl)	10	45,5	91	67,9
Total	22	100,0	135	100,0

P=0,0462

TABELA VI
Nível da fração Gamaglobulina em Pacientes com Malária Falciparum e Teste de Coombs Direto

Fração Gamaglobulina	Teste de Coombs Direto			
	Positivo		Negativo	
	n	%	n	%
Elevada ($\geq 1,5$ g/dl)	9	81,8	28	35,4
Normal ($< 1,5$ g/dl)	2	18,2	51	64,6
Total	11	100,0	79	100,0

P=0,0093

DISCUSSÃO

Como o teste de Coombs direto apresenta valor preditivo de origem imune em doentes com anemia hemolítica, uma das causas da positividade dos mesmos nos pacientes com malária vivax (14 %) e falciparum (12,2 %), poderia decorrer da presença do anticorpo IgG e/ou IgM com ou sem complemento, representando uma anemia hemolítica auto-imune, provavelmente secundária a uma exposição dos antígenos eritrocitários aos parasitas maláricos, ou ainda pela produção de anticorpo IgG contra antígenos maláricos solúveis adsorvidos as hemácias (Abdalla & Weatherall, 1982; Duran & Rodrigues, 2000). Achados semelhantes foram encontrados em amostras de 160 crianças Gambienses, dentre as quais, 50 % apresentaram teste de Coombs direto positivo (Facer *et al.*, 1979; 1980). Em outro estudo, os mesmos autores verificaram que em 51/53 crianças gambienses a positividade do teste de Coombs permaneceu prevalente por períodos acima de seis semanas sem evidência de hemólise. Entretanto, esses dados são divergentes quando associados aos resultados do teste de Coombs direto realizado por Colauto *et al.* (1981) em 109 pacientes no município de Humaitá, estado do Amazonas, no qual não detectaram positividade no referido teste. Deste modo se faz necessária uma avaliação mais precisa a fim de que se possa detectar as razões pelas quais essa população apresentou tal característica. Os testes de auto-absorção e pesquisa e identificação de anticorpos irregulares com painel de hemácias fenotipadas, não detectaram nenhum anticorpo irregular ou autoanticorpo com especificidade contra antígenos eritrocitários.

Os dados obtidos em nossa pesquisa foram semelhantes aos obtidos por Colauto *et al.* (1981), no município de Humaitá-Amazonas, no qual também não foram detectados anticorpos séricos irregulares com especificidade contra antígenos de grupos sanguíneos. Em relação ao sistema complemento, as frações C3 e C4 não foram pesquisadas especificamente. Nossa pesquisa não revelou diferença nos casos de anemia entre pacientes com malária vivax e falciparum ou entre o teste de Coombs direto positivo e malária vivax ou falciparum. Já Nkrumak (1973) e Woodruff (1979) detectaram anemia acentuada com redução parasitária relacionada ao teste de Coombs direto positivo, sugerindo como causa a hemólise por autoimunidade com o envolvimento dos anticorpos IgG e/ou IgM, ou diferença na resposta imune de cada paciente relacionada com a virulência parasitária, ou a genética do organismo ou então, as variações na exposição do paciente ao parasita malárico (Zuckerman, 1966; Jakobsen *et al.*, 1977; Abdalla & Weatherall, 1982; Perlmann *et al.*, 2000; Stinardel *et al.*, 2000).

A elevação com significância estatística nos valores encontrados da fração gamaglobulina no teste de eletroforese em relação às duas malárias, sinalizou uma possível relação entre a elevação média da concentração no nível de anticorpo da classe IgG no plasma dos doentes e o envolvimento na resposta imunológica das imunoglobulinas IgG e IgM indicando que o anticorpo IgG desempenha um papel importante contra a infecção malárica (Targett, 1970; Mac Gregor, 1970; Cox, 1970; Aucan *et al.*, 2000; Perlmann *et al.*, 2000). Nosso estudo possibilitou estudar e conhecer o comportamento sorológico dos anticorpos anti-eritrocitários no soro dos pacientes com teste de Coombs direto positivo portadores de malária vivax ou falciparum que habitam a região amazônica brasileira. De acordo com os dados obtidos neste trabalho, podemos concluir que nas amostras de sangue de pacientes com malária vivax e falciparum não foram detectados anticorpos com especificidade para antígenos de grupos sanguíneos nem anticorpos séricos irregulares, somente os anticorpos naturais; a frequência de positividade no teste de Coombs direto no dia D=0 foi de 12,2 % nos pacientes com malária falciparum e 14 % nos com malária vivax; a gamaglobulina IgG demonstrou envolvimento nas duas infecções maláricas e não foi detectada anemia entre pacientes com teste de Coombs direto positivo e malária vivax ou falciparum.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a todos os que participaram do projeto: Aos colegas do Laboratório de Análises Clínicas da Fundação HEMOAM e Laboratório de Malária da Fundação de Medicina Tropical de Manaus. Este trabalho é resultado da dissertação de mestrado em Patologia Tropical pela UFAM da primeira autora (Ferreira, C M).

REFERÊNCIAS

1. Abdalla, S.M; Weatherall, D.J. The direct antiglobulin test in *Plasmodium falciparum* malaria. British Journal of haematology, volume 51, página: 415-425, 1982.
2. Amil, M; Casais, C. Anemia hemolítica auto-imune: problemas de diagnóstico e tratamento em apresentações pouco frequentes. Discussão de 5 casos clínicos. Revista de Medicina Transfusional, volume 1, página: 16-21, 2000.
3. Aucan, C.; Traoré, Y.; Tall, F.; Nacro, B.; Traoré-Leroux, T.; Fumoux, F.; Rihet, P. High immunoglobulin G2 (IgG2) and low IgG4 levels are associated with human resistance to *Plasmodium falciparum* malaria. Infection & immunity, volume 68(3), página: 1252-1258 2000.

4. Bouharoun-Tayoun, H.; Druilhe, P. Antibodies that protect humans *Plasmodium falciparum* blood stages do not on their own inhibit parasite growth and invasion in vitro, but act in cooperation with monocytes. The Journal of Experimental Medicine, volume 172(6), página: 1633-1641, 1990.
5. Crane, G.G. Malaria e Anemia. Editorial da Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, volume 24(3), página: 131-136, 1991.
6. Colauto, E. M.; Silva, E. A.; Correa, F. M. A.; Colauto, R.; Barboza, A. F.; Vadileti, C.; Meira, D.A. Malaria no município de Humaitá, estado do Amazonas. X. incidência de anticopros anti-eritrocitários na população geral e em doentes. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, volume 23,(5), set/out, 1981.
7. Corbett, C.E.P. Is cytoadherence the pathogenetical basis of cerebral malaria? Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol 91, suppl, nov. Mini-conferences. Acesso em 22 jul.2003.
8. Cox, F. E. G. The Specificity of immunoglobulin G and immunoglobulin M in the Fluorescent-antibody test for malaria parasites in mice. Bulletin of the World Health Organization, volume 143(2), página: 209-350, 1970.
9. Epi-Info. 1 Versão 6.0 b, OMS, Jan., 1997.
- 10.a. Facer, C.A.; Bray, R.S. Direct Coombs antiglobulin reactions in Gambian children with *Plasmodium falciparum* malaria. I. Incidence and class specificity. Clinical and Experimental Immunology, volume 35: página 119-127, 1979.
- 10.b. Facer, C.A.; Bray, R. S.1 Direct Coombs antiglobulin reactions in Gambian children with *Plasmodium falciparum* malaria. III. Incidence and class specificity. Clinical and Experimental Immunology, volume 35: página 119-127, 1980.
11. Hickmann, M.S. Case based pediatrics for medical students and residents. Malaria. Cap.VI, volume 30, Internet, 2003.
12. Jakobsen, P.H.; Byggbjerg, I.C.; Theander, T.G.; Hviid, L.; Fujioka, H.; Aikawa, M.; Bayoumi, R.A.; Koch, C. Soluble haemoglobin is a maker of recent *Plasmodium falciparum* infection. Immunology Letters, volume 59 (1), página: 35-42, 1977.
13. Kakkilaya, B.S. Malaria web site. Complications of malaria. 17 jan. 1999. disponível em: <http://www.geocities.com/hotsprings/resort/5403/complicat.05.01/2000> acesso em : 5 jan de 2000.
14. Mac Gregor, I.A.. Tropical aspects of the epidemiology of malaria II. Israel Journal of Medical Sciences, volume 14, página: 523-536, 1970.
15. Mac Gregor, I.A. Tropical aspects of the epidemiology of malaria I. Israel Journal of Medical Sciences, volume 14, página: 523-536, 1978.
16. Martins, G. A. 6 ed., São Paulo, Atlas, 1996, 60p.
17. Naoum, P.C. Eletroforese Técnicas e Diagnóstico. 1ª ed. Livraria Santos, São José do Rio Preto- São Paulo, 1990, 100p.
18. Nkrumak, F.K. Severe anemia associated with malaria in children. Ghana Medical Journal, volume 12, página: 17-21, 1973.
19. Organização Mundial de Saúde. 2003. Divisão de controle de doenças tropicais. Malaria. Microbiology & Immunology. Update: January 7. acesso em 22 jul. 2003
20. Perlmann, P.; Hevdvig, P.; Looareesuwan, S.; Krudsoos, S.; Skano, S.; Matsumoto, Y.; Brittenham, G.; Blomberg-Troye, M.; Aikawa, M. Contrating Functins of IgG Antimalarial in Uncomplicated and severe *Plasmodium falciparum* malaria. American Journal of tropical medicine & Higiene, volume 62(3), página: 373-377, 2000.
21. Ritter K; Kuhlencord, A.; Thomssen, R.; Bommer, W. Prolonged haemolytic anemia in malaria and autoantibodies against triosephosphate isomerase. Lancet, volume 27, página: 1333-1334, 1993.
22. Salawu, L.; Durosinmi, M.A. Autoimmune haemolytic anaemia: pattern of presentation and management outcome in a Nigerian population: a ten-year experience. African. Journal of Medicine and Science, volume 31(2), página: 97-100, 2002.
23. Siegel, G. Estatística não paramétrica para as ciências do comportamento. Rio de Janeiro, 1979, 80p.
24. Stinardel, H.A.; Yaman-Alf, F.; Genton, B.; Alpers, M.P.; Smith, T.A. Assessment of Different sources of variation in the Antibody responses to specific malaria antigens in Children in Papua New Guinea. International Journal of Epidemiology, volume 29(3), página: 579-586, 2000.
25. Targett, G.A.T. Antibody response to *Plasmodium falciparum* malaria. Clinical and experimental Immunology, volume 7(4), página: 510-517, 1970.
26. Toledo & Ovale, I. Estatística Básica. São Paulo, Atlas, 1981, 50p.
27. Vengelen V. Technical Manual 12ª ed. American Association of Blood Banks- AABB, Bethesda. Maryland, 1996, 752p.
28. Woodruff, A.W.; Ansdellve, V.E.; Pettitt, L.E. Cause of anaemia in malaria. Lancet, volume 1, página: 1055-1057, 1979.
29. Zuckerman, Avivah. Recent Studies on factors Involved in Malarial A Military Medicine, volume 131, página: 1201-1216, (Supl.), 1966.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Cristina Motta Ferreira
 Av. Constantino Nery, 2533 Res. Maria da Fé aptº-704-bloco B. São Geraldo.
 CEP- 69050-001 Manaus-Amazonas.
 Telefone-0XX-92-3635-64-72 ou 0XX92-81-15-07-30.
 E-mail- williamantunes@vivax.com.br

IFCC WorldLab 2008

20th International Congress of Clinical Chemistry
 35º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
 8º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica



28 de setembro a 02 de outubro 2008
 Fortaleza - CE - Brasil



Sociedade
 Brasileira de
 Análises
 Clínicas

A SBAC facilita para você ir ao
 maior congresso mundial de
 Análises Clínicas.

Promoção de Aniversário
 Inscrições a R\$ 400,00 até 31 de março.
 Corra e aproveite!

Maiores informações:
 21 2187-0800 - geral@sbac.org.br - www.sbac.org.br



PROGRAMA CIENTÍFICO

Domingo 28 de Setembro de 2008

18.00 – 20.00 - **Auditório**
CERIMÔNIA DE ABERTURA

Segunda, 29 de Setembro de 2008

09.00 – 09.45 - **Auditório**

PALESTRA PLENÁRIA: O Sistema Proteolítico da Ubiquitina: Mecanismos Básicos e Associações com Doenças

Prof. Aaron Chiechanover - Prêmio Nobel 2004 em Medicina

Centro de Pesquisas em Biologia Vasculare e Tumores – The Rappoport Faculty of Medicine and Research Institute - Haifa, Israel

10.00 – 12.30 - **Auditório**

SESSÕES PARALELAS - O Laboratório no Diabetes e Prediabetes

Presidente: Geraldo Picheth (Brasil)

Marcadores biológicos para avaliar controle glicêmico no diabetes mellitus - *E.S. Kilpatrick (Reino Unido)*

Genética do Diabetes tipo 2 - *T.H. Lindner (Alemanha)*

Modificações pós-tradução de proteínas no Diabetes - *P. Gillery (França)*

Diabetes e Pré-diabetes: Atualização laboratorial e novas perspectivas diagnósticas - *D.E. Bruns (EUA)*

10.00 – 12.30 - **Sala A**

SESSÕES PARALELAS - Bases Moleculares da Medicina e o Laboratório Clínico

Presidente: Paolo Fortina (EUA)

Perfil Molecular do Câncer de Cólon - *F. Barany (EUA)*

Análise de SNP e Sequenciamento de DNA baseados em cargas moleculares intrínsecas - *Y. Miyahara (Japão)*

Testes moleculares para diagnóstico de câncer e seleção de terapia - *Walter H. Koch ()*

Progresso no diagnóstico molecular de doenças síndromicas Hirschsprung e outras neurocristopatias - *M. Goossens (França)*

10.00 – 12.30 - **Sala B**

SESSÕES PARALELAS - Doença de Chagas: diversidade do parasito e diagnóstico

Presidente: Alejandro Luquetti (Brasil)

Diversidade genética do *Trypanosoma cruzi* e implicações epidemiológicas - *B. Zingales (Brasil)*

Diagnóstico molecular da Doença de Chagas - *O. Fernandes (Brasil)*

Novos métodos para o diagnóstico sorológico - *M. Peralta (Brasil)*

Transmissão do *Trypanosoma cruzi* por via transfusional e por transplante de órgãos em áreas não endêmicas - *G. Schmuñis (EUA)*

10.00 – 12.30 - **Sala C**

SESSÕES PARALELAS - O Conceito de Rastreabilidade na Medicina Laboratorial - Uma Ferramenta para Padronização

Presidente: L. Siekmann (Alemanha)

A estratégia para a implementação da rastreabilidade baseada nos padrões relevantes ISO - *J.C. Forest ()*

The Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine – Um enfoque global para aprovar sistemas de referência - *M. Muller (Áustria)*

Requisitos para laboratórios de referência - *L. Siekmann ()*

Padronização da HbA1c através da introdução do conceito de rastreabilidade - *A. Mosca ()*

Conceitos para a padronização das dosagens dos marcadores cardíacos - *M. Panteghini ()*

10.00 – 12.30 - **Sala D**

SESSÕES PARALELAS - Qualidade Analítica

Presidente: Daniel Mazziotta (Argentina)

Qualidade analítica em hemostasia - *C. Duboscq (Argentina)*

Qualidade analítica em hematologia - *N. Fink (Argentina)*

Rastreabilidade e incerteza: responsabilidades da indústria de IVD - *J. Gella (Espanha)*

Padronização analítica: situação na América Latina - *D. Mazziotta (Argentina)*

12.45 – 17.30 – **Sala B e Sala D** - Workshops patrocinados pelas indústrias

15.30 – 17.30 - **Auditório**

SESSÕES PARALELAS - Medicina Laboratorial baseada em Evidência

Presidente: Gerard Sanders (Países Baixos)

- O que é Medicina Laboratorial Baseada em Evidência e como aplicá-la - *A. R. Horvath (Hungria)*
- Revisões sistemáticas que justificam a Medicina Laboratorial baseada em Evidência - *K. Khan (Reino Unido)*
- Medicina baseada em Evidência na cardiologia. A abordagem do estudo de caso - *R. Christenson (EUA)*

15.30 – 17.30 - **Sala A**

SESSÕES PARALELAS - Aspectos Nutricionais em Medicina Laboratorial

Presidente: Shwu-Bin-Lin (Taiwan)

- Avaliação Laboratorial do Status Nutricional – Onde está a Evidência? - *D.E. Palmer-Toy (EUA)*
- Laboratório de Obesidade – da bancada à beira do leito - *K.C. Huang (Taiwan)*
- Deteção e possível significado fisiológico do CEHC, o metabólito da vitamina E - *C-J Huang (Taiwan)*

15.30 – 17.30 - **Sala C** - Simpósio a ser definido

15.30 – 17.30 - **Sala E**

SESSÕES PARALELAS – Garantia da Qualidade em Tecnologias Novas

Presidente: Ian Young (Reino Unido)

- Garantia da qualidade em testes genéticos moleculares - *F. Rousseau (Canadá)*
- Controle de qualidade e padronização em metabóloma - *O. Fiehn (EUA)*
- Controle de qualidade e garantia da qualidade em testes de microarray - *L. Kricka (EUA)*

Terça, 30 de Setembro de 2008

09.00 – 09.45 - **Auditório**

PALESTRA PLENÁRIA: O impacto da biologia molecular no campo das doenças tropicais

Prof. Jorge Kalil - Diretor do Laboratório de Imunologia - Instituto para Investigação em Imunologia, São Paulo, Brasil

10.00 – 12.30 - **Auditório**

SESSÕES PARALELAS - Proteômica

Presidente: Denis Hochstrasser (Suíça)

- Entendendo o Proteoma Humano - *M. Wilkins (Austrália)*
- Um Atlas da Proteína Humana de Tecidos Normais e Câncer - *M. Uhlen (Suécia)*
- Descoberta de Biomarcadores Plasmáticos e O Atlas Peptídico - *R. Aebersold (Suíça)*
- Proteômica e Bioquímica Clínica - *D. Hochstrasser (Suíça)*

10.00 – 12.30 - **Sala A**

SESSÕES PARALELAS - Imunologia Clínica: Alergia e Autoimunidade – Novos conceitos da bancada ao leito do paciente

Presidente: Harald Renz (Alemanha)

- Aumento do número de casos de alergia e autoimunidade: O que podemos aprender sobre a hipótese da higiene? - *H. Renz (Alemanha)*
- Avanços no diagnóstico da alergia: da IgE ao teste celular - *C. Lam (Hong Kong)*
- Valor diagnóstico da triagem e testes específicos para anticorpos antinucleares - *L.E. Andrade (Brasil)*
- Quimiocinas e receptores de quimiocinas: nova perspectiva de marcadores inflamatórios - *M.M. Corsi (Itália)*

10.00 – 12.30 - **Sala B**

SESSÕES PARALELAS - Doenças Tropicais nas Américas – Epidemiologia e Abordagem Laboratorial

Presidente: Carlos Graeff Teixeira (Brasil)

- Ferramentas diagnósticas e medidas de controle em filariose linfática - *G. Fontes (Brasil)*
- Malária: o microscópio e as novas ferramentas diagnósticas - *C.T.D. Ribeiro (Brasil)*
- Lagochilascariase: o papel do diagnóstico parasitológico e molecular - *Passos Barbosa (Brasil)*
- Ferramentas de alta sensibilidade para diagnóstico da esquistossomose em áreas de baixa endemicidade e medicina do viajante - *C. Graeff Teixeira (Brasil)*

10.00 – 12.30 - **Sala C**

SESSÕES PARALELAS - Medicina Laboratorial e Osteoporose

Presidente: Andréa Griesmacher (Áustria)

- Marcadores Bioquímicos de Remodelação Óssea: Diagnóstico na Prática Clínica - *A. Griesmacher (Áustria)*
- Utilidade dos Marcadores de Remodelação Óssea para a Prevenção e Diagnóstico Precoce da Osteoporose - *M.J. Seibel (Austrália)*
- Epidemiologia da Osteoporose e seu impacto no diagnóstico - *H. Schmidt-Gayk (Alemanha)*
- Osteoprotegrina e Ativador de Receptor de NF- κ B, Novos Biomarcadores de Remodelação do Osso - *M. Shaarawy (Egito)*

10.00 – 12.30 - **Sala D**

SESSÕES PARALELAS - Trombofilia Adquirida e Genética

Presidente: Lucía C. Kordich (Argentina)

- O papel das plaquetas e dos produtos derivados das plaquetas na trombose arterial - *D. Mezzano (Chile)*
- Alterações na coagulação e na regulação da fibrinólise - *C. Duboscq (Argentina)*
- Trombofilia e alteração molecular - *J.M. Annichino-Bizzacchi (Brasil)*
- Síndrome Antifosfolípido - *Steffano de Perdomo (Uruguai)*

10.00 – 12.30 – **Sala E**

WORKSHOP – Evidência na Prática Laboratorial

Presidente: Rita Horvath (Hungria)

Presidente manhã: Sverre Sandberg (Noruega)

Introdução: Evidência em ação - *R. Christenson (EUA)*

Validação diagnóstica – este ensaio é clinicamente útil? - *C. Florkowski (Nova Zelândia)*

Usando testes de laboratório para monitoramento: Nós temos a evidência? - *R. Horvath (Hungria)*

O papel da evidência na comunicação dos resultados do laboratório com o clínico - *Peter Bunting (Canadá)*

Discussão

12.45 – 17.30 – **Sala B e Sala D** - Workshops patrocinados pelas indústrias

15.30 – 17.30 – **Auditório**

SESSÕES PARALELAS - Novas tendências no laboratório clínico

Presidente: Helene Anderson Svahn (Suécia)

Identificação de linfócitos T antígeno-específicos no diagnóstico e no monitoramento clínico - *A. Bonini (Itália)*

Miniaturização e aplicações clínicas - *A. Van Den Berg (Países Baixos)*

Análise de células isoladas - *H Andersson (Suécia)*

15.30 – 17.30 - **Sala A** - Simpósio a ser definido

15.30 – 17.30 – **Sala C**

SESSÕES PARALELAS - Medicina Preditiva: da teoria à prática

Presidente: Maurizio Ferrari (Itália)

Proteômica Clínica para a Predição do Câncer - *D.W. Chan (EUA)*

Farmacogenética: Passado, Presente e Futuro - *R.H.N. vanSchaik (Países Baixos)*

A agonia e o êxtase da genética preditiva - *M. Ferrari (Itália)*

15.30 – 17.30 – **Sala E**

WORKSHOP - Evidência na Prática Laboratorial

Presidente: Rita Horvath (Hungria)

Presidente Tarde: Rob Christenson (USA)

Evidência do benefício de testes preditivos: Farmacogenômica e medicina personalizada - *J. Whitfield (Austrália)*

Medicina baseada em evidência *versus* medicina baseada em orientação: semelhanças e diferenças - *J. Watine (França)*

Implementando recomendações orientadas pela evidência na prática - *S. Sandberg (Noruega)*

Discussão

Quarta, 1 de Outubro de 2008

09.00 – 09.45 - **Auditório**

PALESTRA PLENÁRIA: Bases Moleculares das doenças

Prof. Mathias Muller - Sociedade Austríaca de Garantia de Segurança e Padronização, Viena, Áustria.

10.00 – 12.30 - **Auditório**

SESSÕES PARALELAS - Marcadores cardíacos: presente e futuro (Parte I)

Presidente: Mauro Panteghini (Itália)

Questões relacionadas à medição da troponina cardíaca - *M. Panteghini (Itália)*

Troponina: o biomarcador de escolha para detecção de injúria miocárdica - *A. S. Jaffe (EUA)*

Marcadores emergentes da síndrome coronária aguda: além da troponina - *A. Heeschen (Alemanha)*

O valor dos marcadores cardíacos nas doenças cardíacas não isquêmicas - *J. P. Bertinchant (França)*

10.00 – 12.30 - **Sala A** - Simpósio a ser definido

10.00 – 12.30 - **Sala B**

SESSÕES PARALELAS - Diagnóstico molecular de doenças infecciosas

Presidente: Maria Ordália Ferro Barbosa (Brasil)

Abordagem pós-genômica do diagnóstico laboratorial da hanseníase - *M. Stefani (Brasil)*

Métodos moleculares aplicados ao diagnóstico e monitoramento da hepatite C - *J. R. Rebello Pinho (Brasil)*

Diagnóstico molecular da toxoplasmose: possibilidades e problemas - *O. Fernandes da Silva Filho (Brasil)*

Diagnóstico molecular da leishmaniose - *L. Campino (Portugal)*

10.00 – 12.30 - **Sala C**

SESSÕES PARALELAS - Aumento do emprego da espectrometria de massa - Queda do imunoensaio?

Presidente: Linda Thienpont (Bélgica)

Desenvolvimentos tecnológicos na espectrometria de massa direcionada ao multiplexing e análise de alto desempenho - *A ser anunciado*

Aumento do emprego da espectrometria de massa - Queda do imunoensaio? Ponto de vista de um fabricante de imunoensaio - *A ser anunciado*

Aumento da espectrometria de massa - Queda do imunoensaio? Ponto de vista de um fabricante de espectrometria de massa - *M. Morris (Manchester, Reino Unido)*

Aumento da espectrometria de massa - Queda do imunoensaio? Ponto de vista do laboratório clínico - *Rockwood (USA)*

10.00 – 12.30 - Sala D

SESSÕES PARALELAS - Questões em Micologia Médica

Presidente: Amadeo Javier Bava (Argentina)

- Técnicas moleculares aplicadas ao diagnóstico micológico - *M. Cuenca Estrella (Espanha)*
- Avanços no diagnóstico da paracoccidioidomicose - *Z. Pires de Camargo (Brasil)*
- Epidemiologia da Histoplasmose - *M. L. Taylor da Cunha e Mello (México)*
- Diagnóstico da pneumocistose pulmonar - *A. J. Bava (Argentina)*

12.45 – 15.30 – Sala B - Workshops patrocinados pelas indústrias

12.45 – 17.30 - Sala D - Workshops patrocinados pelas indústrias

15.30 – 17.30 - Auditório

SESSÕES PARALELAS - Marcadores cardíacos: presente e futuro (Parte II)

Presidente: Mauro Panteghini (Itália)

- Impacto das questões relacionadas aos ensaios de quantificação do peptídeo natriurético do tipo B - *J. Mair (Áustria)*
- Aplicações clínicas do teste do peptídeo natriurético do tipo B - *A. M. Richards (Nova Zelândia)*
- Biomarcadores de risco cardiovascular: onde devemos focar? - *M. McQueen (Canadá)*

15.30 – 17.30 - Sala A - Simpósio a ser definido

15.30 – 17.30 - Sala B

SESSÕES PARALELAS - Segulab (Segurança em Laboratório): Uma Colaboração Existente entre Brasil e Itália para um Bom Serviço Laboratorial Médico

Presidentes: Paulo Mocarelli (Itália), Ulisses Tuma (Brasil)

- O compromisso da SBAC (Sociedade Brasileira de Análises Clínicas) em Melhorar a Qualidade - *U. Tuma (Brasil)*
- O Projeto Segulab: Realizações e Perspectivas - *F. Dorigatti (Itália), L. Prencipe (Itália)*
- Melhorando a Qualidade e reduzindo erros na medicina laboratorial: aspectos científicos e éticos - *P. Bonini (Itália), G. Zoppei (Itália)*
- Valores de referência específicos para gênero/idade e influência do tempo de entrega de resultados do paciente: dois importantes componentes da qualidade em laboratórios clínicos - *F. Ceriotti (Itália), C. Franzini (Itália)*
- Discussão: Propostas e Perspectivas de Colaboração Internacional - *P. Mocarelli (Itália), U. Tuma (Brasil)*

15.30 – 17.30 - Sala C - Simpósio a ser definido

15.30 – 17.30 - Sala E

SESSÕES PARALELAS - Medicina Laboratorial em países em desenvolvimento: Questões e Desafios

Presidente: Renze Bais (Austrália)

- Medicina Laboratorial na Região da Federação Árabe de Biologia Clínica (AFCB): Prática Atual e Metas Futuras - *Al-Khatib (Síria)*
- O Desafio da Medicina Laboratorial na África - *V. Steenkamp (África do Sul)*
- Situação da Medicina Laboratorial na América Latina. Educação, Regulamentos e Necessidades - *A. L. Maselli (Guatemala)*
- Desafios e Problemas da Medicina Laboratorial na China - *F. Sun (China)*

Quinta, 2 de Outubro de 2008

09.00 – 09.45 - Auditório

PALESTRA PLENÁRIA: A ser definida

10.00 – 12.30 - Auditório

SESSÕES PARALELAS - O Laboratório Clínico e o Manejo do Paciente: Como eles se relacionam?

Presidente: Jocelyn M.B. Hicks (EUA)

- Planejamento Estratégico e Financeiro: Crítico para o Laboratório Clínico - *J. M. B. Hicks (EUA)*
- Minimizando erros do pedido médico à liberação do resultado - *D.S. Young (EUA)*
- Força de Trabalho e privatização dos Laboratórios Clínicos: Dois desafios para a próxima década - *I.C. Barnes (Reino Unido)*
- Caminhos Integrados: O papel do Laboratório Clínico - *M. Plebani (Itália)*

10.00 – 12.30 - Sala A

SESSÕES PARALELAS - Síndrome do stress: Conseqüências Fisiológicas e Bioquímicas no homem

Presidente: Oren Zinder (Israel)

- Vôo Espacial de Longa Duração: Síndrome do Stress Crônico - *J. MacDonald (EUA)*
- Resposta do Stress e Parâmetros Laboratoriais em Pacientes Criticamente Enfermos - *I. Vermes (Países Baixos)*
- Stress Oxidativo e Insuficiência Cardíaca - *I. Schimke (Berlim)*
- Regulação da Resposta do Stress por Esteróides Neuroativos - Amigos ou Inimigos? - *O. Zinder (Israel)*

10.00 – 12.30 - Sala B

SESSÕES PARALELAS - HIV-AIDS: Diagnóstico molecular, genotipagem e epidemiologia

Presidente: Marcelo Pilonetto (Brasil)

- O Uso da Biologia Molecular no diagnóstico da Infecção do HIV - *R. Sobhie Diaz (Brasil)*
- Genotipagem do HIV e sua aplicação - *B. Galvão-Castro (Brasil)*
- Epidemiologia do HIV/AIDS - *D.A. Bertolini (Brasil)*
- A experiência brasileira com genotipagem – A Rede de Genotipagem Nacional - *A ser anunciado*

10.00 – 12.30 - Sala C

SESSÕES PARALELAS - A relevância clínica da incerteza de medição: qualidade analítica e tomada de decisão clínica

Presidente: Ken Sikaris (Austrália)

Incerteza da medição: relevância para o entendimento da qualidade analítica - *K. Sikaris (Austrália)*

Definindo o impacto diagnóstico e de monitoramento do que o laboratório atinge como qualidade analítica - *P. Hyltoft (Dinamarca)*

Definindo o impacto clínico da qualidade do desempenho analítico do laboratório - *G. Klee (EUA)*

Além da qualidade analítica: A importância do controle de qualidade pós analítico para garantir o valor clínico - *G. Cembrowski (Canadá)*

10.00 – 12.30 - Sala D

SESSÕES PARALELAS - Imunofenotipagem de Leucemias e Linfomas

Presidente: A. Ruiz-Arguelles (México)

Recomendações da Segunda Conferência de Consenso Latino Americano para Imunofenotipagem de Malignidades Hematológicas por Citometria de Fluxo - *Ruiz-Arguelles (México)*

Novas contribuições da Imunofenotipagem Multiparamétrica por Citometria de Fluxo para o Diagnóstico das Leucemias Agudas e Crônicas - *A. Órfao (Espanha)*

Imunofenotipagem de Doenças Linfoproliferativas Crônicas - *R.E. Duque (EUA)*

Transplante de Células Troncos Hematopoiéticas para o Tratamento de Malignidades Hematológicas - *A. Madrigal (Reino Unido)*

10.00 – 12.30 - Sala E

WORKSHOP IFCC - Como estabelecer um sistema de qualidade de acordo com ISO 15189 (Parte I)

Presidente: Wim de Kieviet (Países Baixos)

Oradores convidados: E. Frank (Índia); H. Stekel (Áustria); L. Berte (USA) e D. Burnett (Reino Unido)

15.30 – 17.30 - Auditório

SESSÕES PARALELAS - Ácidos Nucléicos Circulantes como Nova Ferramenta de Diagnóstico Molecular

Presidente: Dennis Lo (China)

Ácidos nucleicos circulantes no plasma/soro: noções gerais e aplicabilidade como marcador de tumor - *D. Lo (China)*

Ácidos nucleicos fetais no plasma materno: o futuro do diagnóstico pré-natal não invasivo? - *C. Oudejans (Países Baixos)*

Ácidos nucleicos circulantes no plasma para o monitoramento de doenças agudas e crônicas - *R. Swaminathan (Reino Unido)*

12.45 – 17.30 - Sala B e Sala D - Workshops patrocinados pelas indústrias

15.30 – 17.30 - Sala A

SESSÕES PARALELAS - Medicina Laboratorial em Geriatria

Presidente: Yaping Tian (China)

Biomarcadores e proteômica nas desordens neurodegenerativas - *R. Ekman (Suécia)*

Abordagens não Invasivas em Estudos Metabólicos de Populações Idosas e Outras Vulneráveis - *Y-m Yu (EUA)*

A aplicação clínica do perfil proteômico sérico em população idosa - *Y. Tian (China)*

15.30 – 17.30 - Sala C

SESSÕES PARALELAS - Estudo da Hemostasia e o Laboratório Clínico

Presidente: Richard A. Marlar (EUA)

Testes para Trombofilia - *R. A. Marlar (EUA)*

Garantia da Qualidade e Controle da Qualidade no Laboratório de Coagulação - *S. Kitchen (Reino Unido)*

Diagnóstico de trombose induzida por anticorpo - *E. Lindhoff-Last (Alemanha)*

15.30 – 17.30 - Sala E

WORKSHOP IFCC - Como estabelecer um sistema de qualidade de acordo com ISO 15189 (Parte II)

Presidente: Wim de Kieviet (Países Baixos)

Oradores convidados: E. Frank (Índia); H. Stekel (Áustria); L. Berte (USA) e D. Burnett (Reino Unido)

17.30 – 18.00 - Auditório

CERIMÔNIA DE ENCERRAMENTO



*Vejo você em
Fortaleza!
No IFCC 2008!*

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
SOCIEDADE 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